日本水産学会誌

第二十五巻総目次

(昭和34年5月~昭和34年12月)

Bulletin of the Japanese
Society of Scientific Fisheries
Contents of Volume 25
May 1959~December 1959

昭和三十五年
日本水産学会
The Japanese Society of Scientific Fisheries
TOKYO

目 次

第 1 号　　1959 年5月

第 2 号　　1959 年6月

第 3 号　　1959 年 7 月

第 4 号　　1959 年 8 月

第 5 号　　1959 年 9 月

第 6 号 1959 年10月

第 7~9 号　1959 年 11 月

第 10~12 号　1959 年 12 月

CONTENTS

No. 1 May, 1959

No. 2 June, 1959

No. 3 July, 1959

No. 4 August, 1959

No. 5 September, 1959

No. 6 October, 1959

Nos. 7, 8 and 9 November, 1959

Nos. 10, 11 and 12 December, 1959

ムラサキイガイの生殖腺の周年変化と性現象について

杉　浦　靖　夫

(1958 年 7 月 8 日受理)

SEASONAL CHANGE IN SEXUAL MATURITY AND SEXUALITY OF *MYTILUS EDULIS* L.

Yasuo Sugiura*

The rate of occurrence of sexually mature individuals of *Mytilus edulis* was the lowest in August and rose to almost 100% when the water temperature came down to about 18°C. (October～November).

Seasonal change in maturity based on Chipperfield's classification of stages was as follows:

July～August: Stage 0, August～September: Stage I, September～November: Stage II, November～April: Stage III, May～July: Recently spent Stage.

The minimum size of the mussels sexually mature was found to be 23～24 mm in shell length. In one exceptional individual measuring only 10 mm. in shell length, the spermatozoa were motile in sea water.

Maturation process of young mussels was comparatively slow.

Sex ratio varied in accordance with age. As a rule, among fully grown individuals, more females were encounted than males, although among extremely large individuals, the sex ratio again approached 1: 1.

Ten hermaphrodite mussels were found and these were interpreted as cases of accidental hermaphroditism.

緒　　言

1956 年 7 月より 1958 年 6 月に至る間，千葉県木更津港内外の岸壁の潮間帯に着生するムラサキイガイにつき，生殖腺の周年変化と性現象に関して調査を行つた。

研究の端緒を与えられ，終始御懇切なる御指導を賜わり，且本稿の周密なる御校訂を頂いた，東京都立大学教授団勝磨博士に深甚なる謝意を表わす。また有意義なる御助言を賜わり，御力添え頂いた国立科学博物館滝庸博士に深厚なる謝意を表わす。本研究の一部は文部省科学研究助成補助金によつた。

材　　料

棲息条件のやや異なる地点，即ち木更津港の港口並びに港内奥のものを使用した。(以後それぞれ，Station A, B と称する。) Station A は水の流通のよい航路に北面したコンクリート製護岸の一部で，貝はその表面の平均水面下約 15～50 cm の層に着生し，最下層は砂質の地盤に接していた。棲息密度は小で小型のものが多く，殻長 60 mm を越えるものは少なかつた。Station B は港に北面した石の護岸の一部で，貝はその表面の平均水面下約 50～130 cm の層に着生し，最下層は軟泥の地盤に接していた。棲息密度は大で全体が塊状をなし，種々の大きさのものが存在し，殻長 100 mm に達するものも得られた。但し前者にあつては，1957 年 8 月下旬多量の土砂が堆積したために大部分の貝が斃死し，以後材料の入手に極めて困難を感ずるようになつた。

* 東京水産大学木更津実習場 (Kisarazu Fish. Lab. Tokyo Univ. Fish. Kisarazu, Chiba Pref., Japan).

結果並びに考察

I. 生殖腺の周年変化について

1) 肉眼的観察による生殖腺の周年変化: 主として Station A の材料について観察したところを簡単に述べると，5月頃放卵放精により非常にやせていた外とう膜も，6月に入ると栄養物の蓄積のために肥厚して来，夏季においては外とう膜は主としてこれら栄養物質によつて占められていた。その表面は一見無構造で色彩は個体差に富み，白色，クリーム色，黄色，橙色等であつた。秋期に入りしばらくすると，沪胞の急激な発達により外とう膜上に粟粒状乃至樹枝状模様が肉眼的にも明らかに認められるようになつた。その発見始期は 10 月下旬 (1956 年) であつた。次いで生殖時期になると，ほとんど例外なく沪胞が外とう膜一面に発達して来，更に成熟すると，内部が多量の生殖細胞により満たされるため沪胞は膨脹し，互に密接し外とう膜面において平滑となり，精巣では明らかな石垣状模様をなすに至つた。一般に沪胞の輪かくは雄の方が明瞭であつた。生殖腺が非常に成熟している場合には，外とう膜部の色彩は，雌では橙色乃至赤褐色，雄では白色乃至クリーム色で雌雄の鑑別も容易であつた。産卵期においては往々卵または精子を満たした沪胞の集まる部分とほとんど空になつたものの集まる部分とが不規則なはん状模様をなしている外とう膜が見出された。2月上旬の調査まで容易であつた外とう膜部の色彩による雌雄の鑑別も，3月下旬には既にやや困難となり生殖腺の退化を示していた。Station B の材料について観察したところも大体において以上と同一傾向を示した。外とう膜上に肉眼的に沪胞が認められ始めたのも 10 月中旬 (1957 年) であつた。但し外とう膜部の色彩による雌雄鑑別の可能性の点ではやや劣つていた。

2) 卵または精子の出現率より見た生殖腺の周年変化: 生殖腺の熟否を単に卵または精子の存否のみから判断することは危険で，すべて受精率から検討すべきである。しかしムラサキイガイにおいては通常人工的に切り出した卵は減数分裂を起こしておらず，未熟で人工受精が困難であり，岩田[1]の電気刺激法により産卵させた卵を使えば可能ではあるが，多数の材料の場合には容易でない。以上の理由から，本調査において

Table 1. Seasonal change in sexual maturity in *Mytilus edulis*.

(a) Station A (Shell length 35～65 mm)

Date		T	S	S/T	W.T.
1956	1957				
VII (once a week)	VII-8	60	23	38%	24.7
VIII (once a week)	VIII-5, 27	80	13	16%	28.5
IX (once a week)	—	30	8	27%	24.7
X (once a week)	X-21	55	45	82%	19.5
XI (once a week)	XI-8	83	78	94%	17.5
XII-17	XII-11	49	48	98%	10.9
1957	1958				
I-18	I-8	55	55	100%	7.4
II-4	II-10	80	80	100%	8.5
III-21	III-10	79	79	100%	9.1
IV-10	IV-7	79	79	100%	13.6
V-8	V-14	77	57	74%	16.6
VI-5	VI-18	70	44	63%	21.9

(b) Station B (Shell length 45～69 mm)

Date	T	S	S/T	W.T.
1957				
IX-4	15	0	27%	25.7
〃-14	15	0		23.4
〃-26	15	12		22.9
X-4	15	10	87%	20.4
〃-12	15	14		21.3
〃-25	15	15		18.6
XI-4～9	78	77	99%	18.0
〃-23～25	22	22		14.5
XII-16～27	100	100	100%	11.0
1958				
I-11～12	60	60	100%	8.0
II-11～13	60	60	100%	7.9
III-10～12	50	50	100%	8.5
IV-7～9	50	49	98%	14.2
V-14～15	50	43	86%	16.6
VI-16～17	50	15	30%	23.4

T: Total number of individuals used.
S: Number of sexually mature individuals.
S/T: Rate of occurrence of sexually mature individuals.
W.T.: Water temperature { 1956. VII～XI Mean temperature of the month. 1956. XII～1958. VI Mean high tide temperature occurring in the day time during 10 days preceding to the sampling. }

は便宜上一応形態的に完成された卵または精子[2]が見出される場合と否とにより，生殖腺の成熟の有無を判定した。卵または精子の出現率が年間の最低を示す8月頃の貝でも，海水中でかなり活潑に運動しうる精子をもつていること等から，生殖時期以外でも受精率はさほど低くなるとは思われない。1956 年 7〜10 月の材料については外とう膜部の Paraffin 切片標本， 以降のものでは主としてその塗抹標本により検鏡した。(Plate Fig. 1) なお卵及び精子の出現時期はほぼ同じなので，あわせて取扱つた。

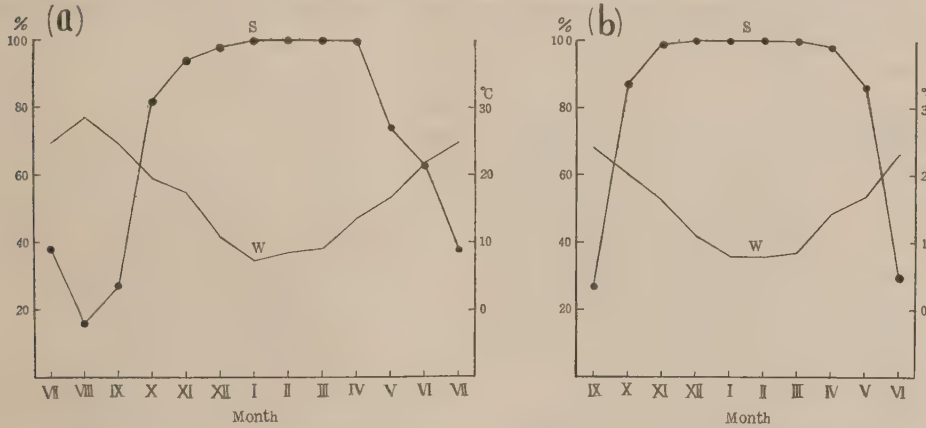


Fig. 1. Relation between sexual maturity in *Mytilus edulis* and water temperature. S: Sexual maturity, W: Water temperature. (a): Station A, (b): St. B.

Table 1 (a) 並びに Fig. 1 (a) に示すように，卵または精子の出現率が最低を示したのは，Station A の材料では水温が月平均で最高 28°C 前後を示す 8 月であつた。この場合でもわずかながら卵または精子をもつ個体が見出された。その後水温が下降して行き，18°C 前後を示す 10 月中旬〜11 月上旬には大低の貝で卵または精子が見出されるようになつた。Table 1 (b) 並びに Fig. 1 (b) は Station B の材料で，生殖腺が成熟を始める時期から退化して行く頃までを調べたものである。特に成熟開始時期においては調査回数を増して見たが，これによると卵または精子の形成がかなり急速に行われることを示している。 11 月下旬頃から月平均で水温が最低 7°C 前後を示す 1〜2 月を経過し，再び 13°C 前後に上昇を見る 4 月上旬頃までは出現率の面からはほとんど 100% を保持したが，17°C 前後を示す 5 月上旬の調査では既に卵または精子を見出し得ない若干の個体が出現し始め，6 月中旬には 70% を占めるに至つた。以上は主として出現率と水温との関係であるが，これらの材料は潮間帯に棲息するものであり，水温のみならず干出時における気温の影響もかなり受けるものと思われる。

3) 切片標本から見た生殖腺の周年変化: Station A における殻長 35〜65 mm のムラサキイガイについて 1956 年 7〜10 月は月 3 回，以降は月 1 回採取し，前者については全材料の，後者については適宜のものの外とう膜部を下記の方法に従い切片標本となし検鏡した。固定は Allen-Bouin または Champy 液を用い，Paraffin 法により 7μ の切片を作成，それぞれ Mayer's hemalum, Eosin; Heidenhain's iron alum hematoxylin, Light green の二重染色を行なつた。ムラサキイガイの生殖腺の発達程度について Chipperfield[3] は次の 5 階級に分けた。 すなわち Stage 0: 無性或いは休止期で外とう膜中に沪胞が見られない。Stage I: 配偶子形成が開始，外とう膜中に沪胞が見え始める。Stage II: 沪胞はよく発達し未熟の卵或いは精子で満たされる。 Stage III: 卵は成熟し受精能力がある。精子は海水中で活性化される。 Recently spent Stage: 大体の沪胞は空で，わずかの卵，精子が存在する。上記の分類に準じそれぞれ相当の時期を挙げると次のようになる。

7〜8 月 : Stage 0,　8〜9 月 : Stage I (Plate Fig. 2),　9〜11 月 : Stage II (Plate Fig. 3),
11〜4 月 : Stage III (Plate Fig. 4),　5〜7 月 : Recently spent Stage (Plate Fig. 5)

II. 性現象について

1957 年 11 月及び 12 月，Station B において採取した各種の大きさに属する 800 個体のムラサキイガイを中心として調査を実施した。

1) 最小成体形： 最小成体形については Table 2 に示すごとくである。生殖腺の成熟が一般的には完成したと見なされる 12 月中，下旬の調査で，殻長 27mm 以上の貝では何れも生殖腺が成熟しているのに対し，9mm 以下のものでは成熟個体を発見できなかつた。なお同年 11 月並びに 1958 年 4 月に行つた調査でもほとんど同一の結果を得，最小成体形は大体殻長 23～24mm の貝であるように思われた。生殖腺を見出し得た最小の個体は 12 月 24 日採取の殻長 10mm，殻高 6mm の貝で，海水中で運動しうる極めてわずかの精子をもつていた。また 11 月 23 日採取の殻長 16mm，殻高 10mm の貝では，淡黄色の沪胞が外とう膜にほぼ一面に粟粒状に散在し，かなり成熟した卵を多数持つていた。

2) 殻長の差異にともなう成熟期の遅速： Table 3 に示すように，老成貝は別として一般に小型の貝の方が生殖腺の成熟時期においてやや遅れる傾向を示していた。

3) 殻長の差異にともなう性比の変化： 全体を通じての雌雄の比率はほとんど相半している。しかし殻長により貝の大きさを 10 階級に分け，各々について性比を検討して見ると Table 4 及び Fig. 2 に示すように，一般に小なるものでは雄の占める割合の方が大であるが，殻長が 50mm 代から 60mm 代になると性比が逆転し雌の占める割合の方が大きくなる。しかし更に大きさを加えると再び両者が接近して来る。内橋[4] はイガイ (*Mytilus crassitesta*) において多くの個体は雄

Table 2. Minimum size for maturation in *Mytilus edulis*.

1957-XII-16～27 Station B

Shell length	T	S	female	male
9～10mm	18	1	0	1
11～12	9	0	0	0
13～14	11	0	0	0
15～16	9	0	0	0
17～18	11	1	0	1
19～20	8	1	0	1
21～22	14	4	1	3
23～24	8	7	2	5
25～26	11	8	2	6
27～28	10	10	5	5
29～30	10	10	5	5

Table 3. Course of maturation among *Mytilus edulis* in different sizes.

1957-IX～XII Station B

Shell length \ Month	IX	X	XI	XII
10～19 mm			2%	4%
20～29			48%	68%
30～39			88%	100%
40～49			95%	100%
50～59	32%	80%	100%	100%
60～69	57%	95%	100%	100%

Table 4. Change in sex ratio of *Mytilus edulis* in different sizes.

1957-XI, XII Station B

Shell length	T	S (S/T)	female	male	hermaphrodite
0～9 mm	60 (100%)	0	0	0	0
10～19	100 (〃)	3 (3.0%)	1 (1.0%)	2 (2.0%)	0
20～29	100 (〃)	58 (58.0%)	21 (21.0%)	37 (37.0%)	0
30～39	100 (〃)	94 (94.0%)	39 (39.0%)	55 (55.0%)	0
40～49	80 (〃)	78 (97.5%)	35 (43.7%)	42 (52.5%)	1 (1.2%)
50～59	80 (〃)	80 (100%)	36 (45.0%)	43 (53.7%)	1 (1.2%)
60～69	80 (〃)	80 (100%)	46 (57.5%)	33 (41.2%)	1 (1.2%)
70～79	80 (〃)	79 (98.7%)	53 (66.2%)	26 (32.5%)	0
80～89	80 (〃)	79 (98.7%)	42 (52.5%)	36 (45.0%)	1 (1.2%)
90～99	40 (〃)	40 (100%)	20 (50.0%)	20 (50.0%)	0
	800 (〃)	591 (73.9%)	293 (36.6%)	294 (36.7%)	4 (0.5%)

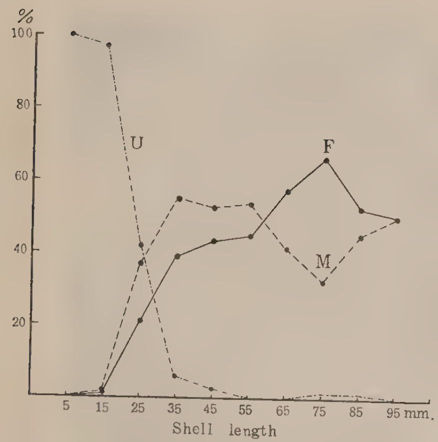


Fig. 2. Change in sex ratio of *Mytilus edulis* in different sizes.
F: Female, M: Male
U: Sex unidentifiable
F + M + Hermaphrodites + U = 100

Table 5. Hermaphroditic *Mytilus edulis*

Date	Shell length	Shell height	Station
1956—X-28	31 mm	19 mm	A
〃 XII-17	57	30	A
1957—XI—6	42	26	B
〃 XI—6	58	31	B
〃 XI—7	61	37	B
〃 XII-27	86	43	B
1958—II-25	52	29	—
〃 II-26	44	26	B
〃 III-10	30	18	A
〃 III-13	59	31	B

より雌に性を転換する時代を経て老成時代に入るもので，性を転換する時代と形態は環境によつて異なつていて，明石産のイガイにあつては殼の大きさの段階によつてその顕現する性とその出現率がはなはだしく異なつていると述べている。今回のムラサキイガイにおける調査でもほぼそれと同傾向を示したが，さほど性比が極端ではなく，またイガイの場合はある限度以上では大きさを増せば増す程雌の占める割合が大きくなる一方であつたが，本調査においては大きさが極端に近付くと再び性比が 1：1 に迫つて来たことが顕著な相違である。

4) 雌雄同体： 1957 年 11，12 月における Station B の材料による調査において 4 例の雌雄同体個体を得たが，これは成熟個体の 0.68% を占めることになる。別に Station A の材料からも 2 例発見した。なお別個に特に雌雄同体個体を見出す目的で港の内外にわたり調査した結果は 400 個体の成熟貝中 4 例であつた。貝の大きさ，採取年月日及び場所を示せば Table 5 の通りである。雌雄同体はかなり種々の大きさの貝で見出され，その程度も区々で非常に軽度のものは見落してしまう危険がある。すべての場合，卵巣部と精巣部の割合は一定せず，片側の外とう膜が一面に一方の性で占められているのに対し他側のそれでは両性を示しているような型のものが多く，また両側全く相反する性を示しているものもあつた。切片標本により調べて見ると卵及び精子が別々の沪胞に見出された (Plate Fig. 6)。

要　　結

(1) 生殖腺の熟度は水温が年間の最高を示す 8 月頃に最も低下し，18°C 前後に下る頃より急速に発達を見る。

(2) 最小成体形は殼長 23〜24 mm 前後の貝である。

(3) 生殖腺の成熟時期は一般に大型の貝の方が早いようである。

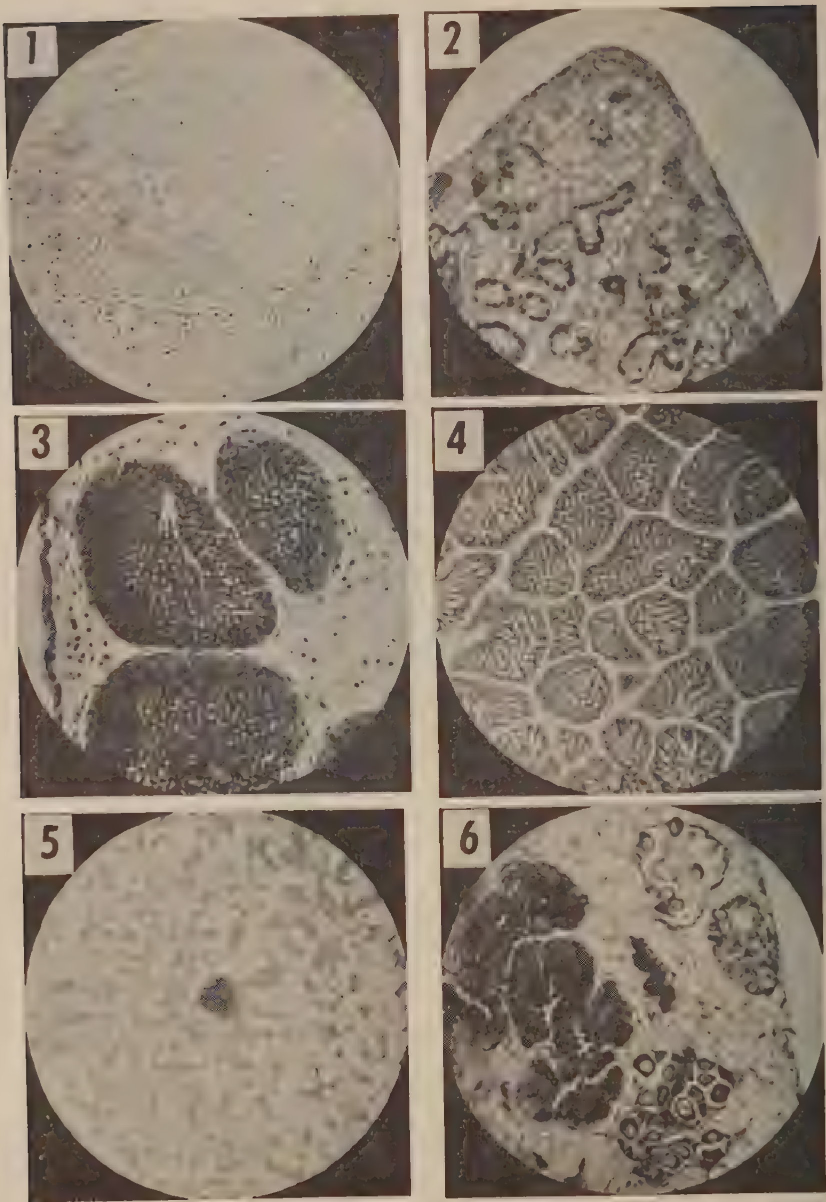
(4) 小型の貝と大型の貝では性比が相反しており，後者においては雌の方が多い。しかし更に特に大きなものになると相半する傾向がある。

(5) 雌雄同体個体は例外的に見出され卵巣部と精巣部の割合は一定していない。

文　　献

1) 岩田清二： 本誌，**15**，443，(1950).
2) Field, I.: Bull. U. S. Bureau Fish., **38**, 127 (1922).
3) Chipperfield, P. N. J.: Journ. Mar. Biol. Ass. U. K., **32**, 449 (1953).
4) 内橋　潔： 水産界，**807**，42 (1951).
5) 江上信雄： 実験形態学，**5**，91 (1949).

Plate I. Microscopic figure of gonads of *Mytilus edulis.*



⊢—⊣ 0.1 mm Figs 1, 3 ⊢——⊣ 0.5 mm Figs 2, 4, 5, 6

Explanation of Plate I.

Fig. 1. Spermatozoa and spermatids in smear preparation.
Fig. 2. Onset of oogenesis. (Stage I)
Fig. 3. Male follicles in the process of spermatogenesis. (Stage II)
Fig. 4. Formation of the sperm-bandles. (Stage III)
Fig. 5. Residual sperm in the mantle tissue. (Recently spent Stage)
Fig. 6. Hermaphroditic gonads.

北海道周辺海域へ来遊する特大ブリ群について

三　谷　文　夫

(1959 年 2 月 9 日受理)

ON SHOALS OF THE YELLOWTAIL, *SERIOLA QUINQUERADIATA* T. & S., MIGRATING TO THE WATERS AROUND HOKKAIDO

Fumio MITANI*

In the present paper is described the state of those yellowtails having been caught which usually come migrating to the waters around Hokkaido and is also discussed the relation between this fish stock and another migrating to the Tsushima Islands, based upon the daily records of yellowtails which were caught in trap-nets along different coasts of Japan during the five years from 1953 to 1957.

Larger yellowtails (> class 7, as shown in Fig. 1) are caught in shoals during the months from July to November, especially in autumn, in trap-nets off the western coast of Hokkaido (Fig. 1 and Table 1), and it is sometimes so with the Pacific coast of the Toshima Peninsula in Hokkaido and the Japan Sea coast of Aomori Prefecture (Fig. 1), but it is not so with the other regions of Japan, excepting the Tsushima Islands which are located at the gate of the Japan Sea, as described in details in our previous paper (MITANI, 1959). The writer has herein taken into consideration the relationship between those two stocks, one being a stock of yellowtails caught off Hokkaido and the other, a stock of the same fish caught off the Tsushima Islands.

The courses of the Tsushima Current in the Japan Sea are semidiagrammatically shown in Fig. 2. As is seen in Fig. 2, in the Japan Sea the contact zone is remarkably formed, extending from off the eastern coast of Korea to off the western coast of Hokkaido across the central part of the Sea, which is the habitation for such fishes as cods, saury, sardines, mackerels, pampanos and even some squids. Most of these are favourite preys for the yellowtail. Judging from the current conditions and habit of fish, yellowtails, which come back to the Korean Straits after spawning in the East China Sea in spring, migrate north looking for food probably along the contact zone where plenty of food for them is found. Some of the fish may reach the western region off Hokkaido. Accordingly, the Hokkaido Ground is presumed to be connected with the Tsushima Ground, with the contact zone lying across the Japan Sea intervening between them. In other words, those two stocks of yellowtails which have been referred to in the preceding paragraph probably belong to the same population.

緒　言

筆者[1]は前に，対馬列島ならびにその周辺海域に敷設されているブリ定置網の漁獲記録を調査して，対馬に来遊する特大ブリ群は，おそらく，朝鮮東岸沿海に分布するブリ群と同一の種族に属すべきことを推論した。その後，日本近海の全海域（日本海側と太平洋側）についても，同様の漁況調査を行なつた結果，北海道周辺海域でも特大ブリがかなり大量に漁獲されていることを確めることができたので，最近の日本海の海況をあわせ考えて，その回遊経路に若干の考察を加えた。

稿を進めるに当り，貴重な資料を提供していただいた大洋漁業株式会社下関支社定置漁業部の方々に深甚の謝意を表する。また，この論文を校閲して種々重要な助言を与えられた当教室松原喜代松教授に心から御

* 京都大学農学部水産学科 (Dep. Fish., Fac. Agr., Kyoto Univ., Maizuru, Kyoto, Japan).

礼申しあげる。

調 査 資 料

大洋漁業株式会社の資料に基づいて，漁獲記録を調べたのは次の 41 漁場 (45 統) で，これらの地理的位置は Fig. 2 に示してある。

日 本 海 側

北海道西岸
- 香深(かぶか)
- 岩内(いわない)
- 島牧(しままき)
- 貝取澗(かいとりま)

青森県沿岸
- 入前崎(にゆうまいざき)
- 双六(すごろく)

富山湾沿岸
- 大黒(だいこく)
- 四方(しかた)
- 鈴島(すずしま)

若狭湾沿岸
- 日向 1・2 号・同夏網
- 河野(こーの)
- 立石(たていし)

山 陰 沿 岸
- 津摩(つま) 1・2 号
- 川尻(かわじり)

太 平 洋 側

北海道渡島半島
- 川汲(かっくみ)
- 尾札部(おさつべ)
- 見日(けんにち)
- 古部(ふるべ)
- 椴法華(とどほつけ)

三 陸 沿 岸
- 桐ケ柵(きりがさく)
- 大建(おーだて)
- 大輪(おーわ)
- 茂田(しげた)
- 江の島(えのしま)

常 磐 沿 岸
- 久之浜(ひさのはま)
- 豊間(とよま)

房 総 沿 岸
- 波太(なぶと)

相模湾沿岸
- 高浦(たかうら)
- 富戸(ふと)
- 北川(ほっかわ)

駿河湾沿岸
- 伊浜(いはま)

熊野灘沿岸
- 和具(わぐ)
- 古和(こわ)
- 須賀利(すがり)
- 阿田和(あだわ) 1・2 号

土佐湾沿岸
- 伊田(いだ)
- 伊佐(いさ)

日向灘沿岸
- 島野浦(しまのうら)
- 浦尻(うらじり)
- 赤水(あかみず)
- 都農(つの)

上記の各漁場について，1953 年 1 月から 1957 年 12 月までの 5 か年間にわたり，毎日の漁獲記録を調べた*)。また，魚体の大きさは，前報[1] と同様，体重をもつて表わした。

なお，昭和 32 年度 (1957) 漁業養殖業漁獲統計表[2] によれば，同年度のブリ定置網の全国総数は 438 統 (日本海側 180 統，太平洋側 258 統) であるから**)，この研究で取扱われた網数はそのうちのわずかに 10 %余にすぎない。それゆえ，量的な面から見れば，前記の網数では日本近海のブリ漁況の全ぼうを表わしていないけれども，ある程度の特徴的事実はうかがい知ることができると考える。

海域別月別体重組成

日本近海で漁獲されるブリの各海域における特徴を知るために，漁場毎に月別体重組成を求め，それを各海域毎に一括して比較したが，そのうち，1957 年度の分を Fig. 1 に例示した。ただし，Fig. 1 においては，前報[1]と同様，体重を 9 階級に分け，また，階級 7 (11.45 kg) 以上の特大ブリの部分を，便宜上，黒く

---

*) これらの漁場のうちには，年によつてブリ定置網が敷設されなかつたところもあるが，繁雑をさけるために，ここでは，その詳細については省略する。

**) 昭和 31 年度 (1956) から，はじめて，「ぶり・まぐろ定置網」なる項目が分離・独立して設けられるようになつたが，それ以前までは「さけ・ます定置網」とともに「その他の大型定置網」の中に一括されている。

塗つた。

Fig. 1 は各海域での漁獲量を比例的には表わしてはいないが，海域別魚体組成の特徴は大体示しているものと考える。そうすると，日本海側で漁獲されるブリは太平洋側のそれよりも，一般に，魚体が大きい傾向がうかがわれ，ことに，特大ブリ群の存在が注目される。すなわち，特大ブリはすでに道津ら[3]によつて指摘されているように，日本海側では北海道西岸で 8～11 月，特に 10 月に，かなり大量に漁獲されており，また，青森県沿岸（双六漁場）でも少量ながら漁獲されている。一方，太平洋側でも北海道渡島にある漁場では，8・9 月の候にある程度まとまつて漁獲されている。しかし，その他の海域では，このような特大ブリ群がまとまつて漁獲された記録はこの資料の範囲内では見当らない。このような現象がこの年の漁期だけの特異なものか，あるいは，例年的なものかを知るために，漁獲記録のある，他の 4 漁期についても調べてみた。その結果，北海道西岸にあつては，大体，例年的な傾向で，ことに，島牧漁場では Table 1 に示すとおり，特大ブリは毎年大量に漁獲されている。

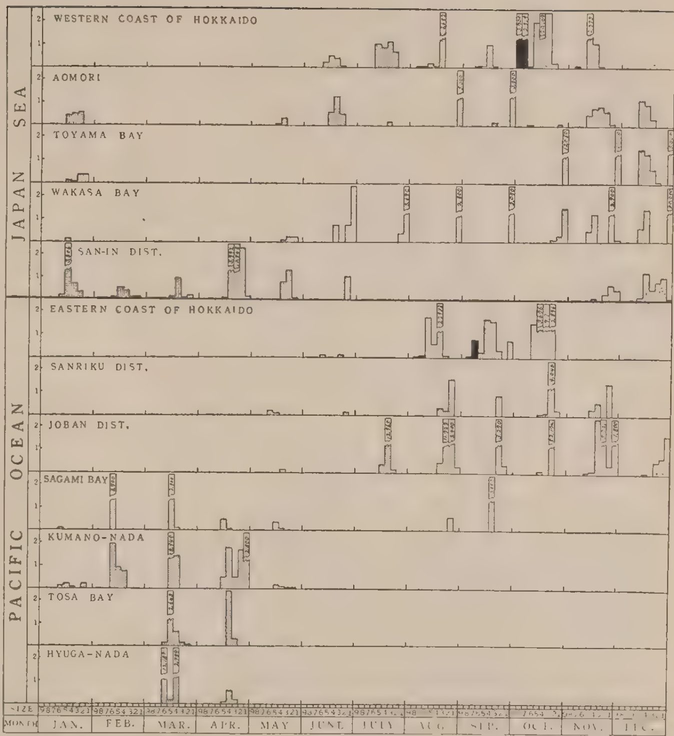


Fig. 1. Size composition of yellowtails, *Seriola quinqueradiata* T. & S., according to the regions in the fishing grounds off the coast of Japan in 1957. Abscissa represents the body size in weight, which is divided into nine classes with 1.87 kg interval between, which follows:
class 1, < 2.06 kg; 2, 2.07–3.94; 3, 3.95–5.81; 4, 5.82–7.69; 5, 7.70–9.45; 6, 9.55–11.44; 7, 11.45–13.31; 8, 13.32–15.19; and 9, > 15.20.
Ordinate represents number of fishes in a unit of 1,000 individuals. Larger size (> class 7) is indicated by heavy column.

Table 1. Records of the catch of larger-sized yellowtails, *Seriola quinqueradiata* T. & S. (> class 7), caught in trap-net in Shimamaki Ground off the western coast of Hokkaido during four years from 1953 to 1956.

1953			1954			1955			1956		
Date caught	Body weight (kg)	No. of indiv.	Date caught	Body weight (kg)	No. of indiv.	Date caught	Body weight (kg)	No. of indiv.	Date caught	Body weight (kg)	No. of indiv.
Nov. 3	12.4	4194	Oct. 31	12.8	761	Oct. 13	13.1	3074	Oct. 25	13.1	628
〃 5	12.7	4146	Nov. 3	13.3	4194	〃 17	13.1	100	〃 30	14.3	112
〃 9	13.9	4350	〃 5	13.3	4146	〃 24	15.0	240	Nov. 22	11.6	1958
〃 11	13.1	4155	〃 9	13.9	4350	Nov. 5	12.0	284			
〃 13	13.1	3756	〃 13	13.3	3756						

また，そのほかの海域にあつては，Table 2 に示すとおり，1956 年 11 月から 12 月にかけて，日本海側の各海域すなわち青森県沿岸・富山湾・若狭湾および山陰沿岸で，ある程度まとまつて漁獲されたことは興味深いことである。しかし，これらの海域でも，他の年度においてはほとんど全く特大ブリ群の漁獲記録は見当らない。

以上のことから，結局，特大ブリ群が例年的にある程度まとまつて漁獲される漁場は北海道の日本海側を主とし，それに，同じく北海道の渡島半島太平洋側ならびに，年によつては，青森県日本海側でも漁獲されることがあるということになる。

Table 2. Records of the catch of larger-sized yellowtails, *Seriola quinqueradiata* T. & S. (> class 7), caught in trap-nets in the fishing grounds off the coast of Japan during four years from 1953 to 1956.

Fishing ground	Date caught	Body weight (kg)	No. of indiv.
Tsuma No. 1	Jan. 9, 1953	13.2	131
Kakkumi No. 1	Nov. 13, 1956	13.2	15
Nyumai-zaki	〃 22, 〃	12.7	45
Daikoku	〃 17, 〃	11.6	109
Tateishi	〃 3, 〃	14.3	3
〃	〃 28, 〃	11.6	11
〃	〃 30, 〃	11.6	1062
Hyuga No. 1	Dec. 25, 〃	14.3	390
Hyuga No. 2	Jan. 26, 〃	12.0	6
〃	Nov. 29, 〃	13.2	162

論　　議

日本海の最近の海況はまだ充分明らかでない点も多いが，宇田 (1952)[4] や対馬暖流開発調査報告書（第1輯　漁況・海況篇）[5] によれば，大体，次のように考えられる。対馬暖流系水は対馬列島を挟んで東・西両水道を流過するが，東水道を流過したものは沿岸水の影響が多く，かつ，その勢力も弱いので，西水道を流過したものが日本海へ入つてからこの系水の主力となる。そして，島根沖冷水塊によつて，東鮮暖流（対馬暖流第3分枝）と対馬暖流（対馬暖流第1分枝または接岸暖流と，同第2分枝または沖合暖流とを一緒にしたもの）とが分かれ，さらに，若狭沖冷水塊によつて，第1分枝と第2分枝とに分かれる。第2分枝は第1分枝の北側を北東に流れ，大部分は隠岐島の西方から北側を流過し日本海北部海域においてはこれが対馬暖流の主力となることは前述のとおりである。一方，東鮮暖流は朝鮮東岸沿いに北上して，北鮮寒流との間に顕著な潮境を作りながら，大和堆冷水塊の南・北両側を東進する。能登半島沖を越えた対馬暖流は佐渡北方や秋田西方の冷水塊の間を蛇行しながら北上する。このようにして青森沖に達すると，津軽西方の大冷水塊のために対馬暖流は接岸していることが多く，津軽海峡における日本海と太平洋との水位差によつて，表層水の大部分（約 70%）が太平洋へ流出して，いわゆる，津軽暖流となり，北海道噴火湾および三陸沖へ向かう。このため，津軽以北の北海道西方海域では，暖流の流量は津軽以南のそれの約半分以下になる。そして，さらに，そのものの大部分は宗谷海峡からオホーツク海に流出して，いわゆる，宗谷暖流となるが，1部（約 15%）は環流となつて再び南下する。もつとも，能登半島を境にして，南北両海域では水質がかなり異なり，能登半島以北では，表層水が日本海中央部に向かつて拡がり，海流の流速も弱くなつて，3つの分枝を明りように区別することは困難なことも多いらしい。そして，津軽沖冷水塊の南側から東側にかけて，日本海中央寒流と暖流系水との間に潮境を作り，また沿海州寒流あるいは冷水性の沿海州沿岸水との間にも潮境を作り，これらは相連結して，はるか北方にまで延びている。以上が日本海における最近の水系や水質の分布状態であるが，結局，このような水塊の移動状況からみて，対馬海峡から津軽海峡まで達するに要する時間は，表層水で約2か月，中層水で約3か月と計算されている。そして，同じ暖流系水といつても，冷水や沿岸水の影響を受けている間に，水質はすつかり変化してしまうことは当然であろう。以上の海況を模式的に図示したものが Fig. 2 である。

そこで，前節で述べたブリの漁況，特に，特大ブリ群のそれと海況との関係について以下考察する。特大ブリ群は北海道周辺海域では，ほぼ例年的に漁獲されていることは既述のとおりであるが，これに類した特大ブリ群は対馬列島でも大量に漁獲されていて[3]，それは朝鮮東岸沿海に分布するものと同一の種族に属するものらしいことは前報[1] で明らかにしたところである。それゆえ，北海道周辺海域で漁獲される特大ブリ群と対馬列島におけるそれらとの間に種族的な関連があるかどうかが問題になつてくる。秋から冬にかけて

対馬列島に来遊した朝鮮東岸系特大ブリ群は産卵のためにさらに南下するであろうが，産卵後再び北上に転じ，西水道を通過した後は東鮮暖流あるいは第2分枝に乗つて日本本土の沖合を北進し，春から夏にかけ，索餌回遊に移るものと考えられる。一方，東水道を通過したものは第1分枝に乗つて本土沿岸へ来遊するものと思われる。ところで，西水道を通過したブリ群がどこまで達するかという問題であるが，日本海中央部には東鮮暖流や対馬暖流と北方からの種々な寒流との間に顕著な潮境が形成されており，ここは，スケトウダラ・サンマ・イワシ類・サバ類・アジ類およびイカ類などの，ブリが最も好む餌料生物[8]の好漁場となつている。したがつて，索餌回遊に移つた特大ブリ群はこれらの餌料生物を追いながら，本土沖合の潮境に沿つて，かなり広範囲に移動しているのではなかろうか。そして，ちようど，青森県沿岸の，暖流が最も接岸したところで，再び本土沿岸にその姿を現わし，そのうちの一部は夏から秋にかけて双六漁場や入前崎漁場で漁獲されるのではないかと思われる。そして，それらのうちには，津軽暖流に乗つて太平洋に出て，渡島半島沿岸のブリ定置網に入るものもあろうし，また，接岸しなかつたものは沖合をそのまま北上してカラフト南端あたりまで達するものもあろう。そして，それらが後志，留萌あるいは礼文島あたりの漁場で秋季に漁獲されるものと考えられる。そして，冬になつて寒流系水が強勢化するとともに再び南下に転じるのであろう。青森県沿岸や噴火湾沿岸で，年によつて特大ブリがほとんど漁獲されないことがあるのは西方から接岸する暖流勢力が弱い時ではないかと考えられる。最近，対馬暖流の強勢化とともに，北海道近海でも再びブリが獲れだしたことは大垣 (1953)[7] の報告でも明らかであるが，このことは，回遊性魚類は分布の縁辺ではその時々の海況の影響を受けることが大きく，かつ，その附近に滞留する傾向を持つている[8] という一般的な法則とも関連しているのかもしれない。



Fig. 2. Showing the geographical location of each net examined in the present investigation, and the oceanographical conditions of the Japan Sea in recent years. Oceanographical data, Uda, 1952, and from "Report on the Tsushima Current Expedition, Part 1". Open arrows, cold current: solid ones, warm current; B_1, B_2, and B_3 represent the 1st, 2nd and 3rd branches of the Tsushima Current, respectively.

C_1, region of cold water off Shimane; C_2, off Wakasa; C_3, off Noto; C_4, off Sado; C_5, Yamato-tai Bank, and C_6, off Tsugaru. ΩΩΩ, contact zone.

結局，秋・冬の候に対馬漁場で漁獲される特大ブリ群と次の夏・秋の候に北海道沿海で漁獲されるそれらとが全く同一の魚群であるかどうかは，まだ，はつきりはしないけれども，両者が種族的には同じ朝鮮東岸系に属しているものではないかと考えられる。

文　　献

1) 三谷文夫： 本誌，**24** (11)，888～892 (1959).
2) 農林省： 昭和 32 年度漁業養殖業漁獲統計表，487 pp.，農林統計協会 (1958).
3) 道津喜衛，ほか2名： ていち，(15)，19～32 (1957).
4) 宇田道隆： 日本海区水研創立三周年記念論文集，291～298 (1952).
5) 水産庁： 対馬暖流開発調査報告書 (第1輯 漁況・海況篇)，xiii + 539，(1958).
6) 三谷文夫： 本誌，**24** (3)，176～181 (1958).
7) 大垣光平，ほか3名： 北水試月報，**10** (4)，35～45 (1953).
8) 田内森三郎・三善清旭： 本誌，**5** (5)，287～290 (1939).

まき網漁業の資料より見たカツオ・マグロの生態と漁獲との関係

井　上　　実

(1959 年 2 月 19 日受理)

ON THE RELATION OF BEHAVIOURS OF SKIPJACK AND TUNA SHOALS TO THEIR CATCH INFERRED FROM THE DATA FOR SEINE FISHERY.

Makoto INOUE*

The behaviour of skipjack shoals has often been studied since many years ago on the basis of the data of angle fishery.

As regards seine fishery data, in turn, they have also become available recently for skipjack and tuna made a rapid progress on the coast of the north eastern sea areas of Japan.

Therefore, in this paper, the relation of behaviours of skipjack and tuna to their catch and also the relation of grouping of fish in shoals to their catch were studied from the data of seine fishery.

The difference in catching power was also pursued between one boat seine and two boats seine.

The species of fish treated in this paper are blue-fin-tuna, young-tuna, yellow-fin-tuna, sword-fish, skipjack and their mixed shoal.

1) The values of the catching ratio (f) and catch (c), which were calculated for three ranks of grouping, namely, Great-, intermediate-, and small shoals, and for various species of shoals are indicated in Table 4. Showing this table, the values of f of small shoals in various species are higher than those of large shoals.

2) The type of shoals has been sorted into nine classes from the viewpoint of their characteristic behaviours as described in Table 5. The typle corresponding to good catching ratio was found one of the so-called "shoal with baits" indifferent of species to shoals and this finding forms a contrast against the case of angle fishery.

3) There was found a little difference in catch per hauling between one boat seine and two boats seine.

カツオ群の生態に関しては，従前より研究されているが，それらは主として，釣漁業の資料に基いたものであつた。最近，三陸，東北沿岸ではまき網によるカツオ，マグロ漁業が盛んになつたが，本研究では，まき網の資料により，カツオとマグロの生態及び群の濃淡と漁獲との関係を調べ，併せて1そうまきと2そうまきとの漁獲性能についても比較した。

§. 資　料

調査に用いた資料は大洋漁業株式会社のカツオ・マグロまき網漁船の昭和 28～32 年の漁業日誌であり，資料に用いた統数及びその網船の屯数は Table 1 の通りで，年により資料数は異なる。

Table 1. Number of fishing boats for each year

Year	One boat seine	Two boat seine
1953	8 (99.4～189.5ton)	0
1954	7 (99.4～189.5 〃)	0
1955	2(148.6～178.5 〃)	2(123.0～163.5ton)
1956	2(148.6～178.5 〃)	3(123.0～163.5 〃)
1957	2(148.6～178.5 〃)	3 (80.9～164.6 〃)

( ): Tonnage of seine boat

* 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish. Minato-ku, Tokyo, Japan).

この資料によれば，漁獲された魚群はカツオ・マグロ・カジキ・キハダ・メジ及び混り（２種以上の魚群の混合）で，魚群の濃度は，大・中・小に，群の生態は素群・鳥付・ハネ・トロミ・エサモチ・シラワキ・木付・鯨付・サメ付・その他及び不明群（本文では以下不明群と称す）に分けられている。木村[1)]によれば，カツオ群の生態を素群・ハネ・サメ付・木付・鯨付・鳥付・エサモチ群に分けている。ここではすべての魚種につき，トロミ群とシラワキ群を加えたが，元来トロミ群は素群に，シラワキ群はエサモチ群に属するものである。

これらの群のうち，付物群以下の状態を漁業者よりの聞取り調査によつて簡単に説明すると次の通りである。

トロミ：水面に跳躍するものはないが，水面下に密集し，旋回運動をしていることもある。動作は割合遅鈍で，飽食の状態に多くみられるという。

ハネ：中層を游泳し，時々表面に出て跳躍するものがあるので，群の存在が知られる。潮境附近に多くみられ，鳥付の場合もあり，本資料中発見回数は最も多い。

エサモチ：餌とするイワシ・イカ・サンマ・小サバ等の小魚についた群で，イワシについた群が最も漁獲し易いとされる。

素群：トロミ・ハネの状態以外の場合で，ただ一途に游泳している。

シラワキ：エサモチ群のうち，魚群が密集して摂餌している状態で，海面に白い泡が一面に拡がるので，特にエサモチ群と区別される。

５カ年の記録を一纏めにして，魚種別発見回数を調べると Table 2 のようであり，主な対象魚はカツオ・マグロ・キハダである。混り群は主にカツオとマグロの場合が多いが，これ以外の組合せもある。

Table 2. Number of investigation runs for each species of fish

Fish / name of shoal	Frequency of runs detected
マグロ blue-fin-tuna	716
カジキ sword-fish	28
キハダ yellow-fin-tuna	191
メジ young-tuna	126
カツオ skipjack	326
混り群 mixed shoal	102

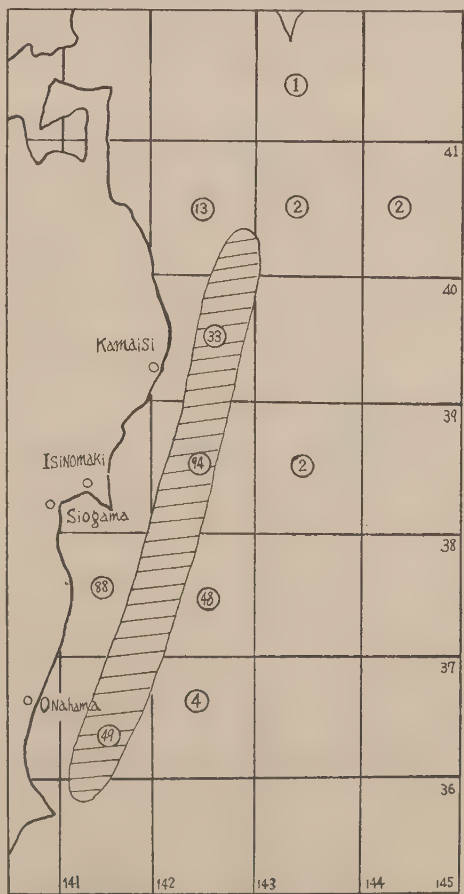


Fig. 1. Fishing ground in 1954.

Remarks:

1) The area with oblique lines shows the important fishing ground.

2) The figures enclosed with circle show numbers of haul in requares of one degree longitude and latitude.

§. 漁場，漁期

まき網漁船は小名浜，塩釜，石巻を根拠として，距岸 50～60 浬附近まで出漁する。例年５月下旬～６月上旬より開始し，次第に北上し，襟裳岬附近に至ることがあり，10月上旬終漁する。１例として，昭和29年の漁場を示すと，Fig. 1 のようで，主漁

場は斜線で示されるように極めて沿岸寄りである。カツオ釣漁場はまき網漁場と交錯することもあるが，多くは東径 145 度以東である。

§. 魚群の濃度と漁獲率

5カ年の記録を一纏めにして，1そうまき，2そうまきに区別し，魚種別に魚群の濃度別に有漁率 f（有漁投網回数と総投網回数 N との比）を計算すると Table 3 (A・B) のようになる。この表によると，2そう旋のカツオ・メジの例を除き，すべての魚種につき小群の場合は，大群の場合にくらべ，やや有獲率が高いようにみられる（カジキは資料数が少いので表から省いた）。

また，これを有漁投網1回当り漁獲量 c でくらべると，すべての魚種で，大群は小群にくらべ 1.8～6.3 倍漁獲量は大きくなつている。この結果からみて，群の大，小によつて，漁獲に難易が生ずるようであり，群が大きければ，小群より漁獲が困難となるが，反対に1回当り漁獲量は大きいことが考えられる。

また，魚種別の有漁率では，マグロ・カジキ・メジは 30% 以下，キハダ・カツオ，混り群では 53% 以

Table 3. Values of f for the groupings of various species of fish

A) One boat seine

	blue-fin-tuna				yellow-fin-tuna				young-tuna			
	G	I	S	Total	G	I	S	Total	G	I	S	Total
n/N	28/145	16/65	53/196	97/401	21/43	10/24	53/98	84/165	5/26	5/18	22/59	32/107
f	.19	.25	.26	.24	.49	.42	.54	.51	.19	.28	.37	.28
c Kan	4,330	2,260	760	2,220	2,890	2,140	890	1,540	2,000	2,370	1,170	1,500

	skipjack				mixed species			
n/N	34/72	22/39	101/172	157/283	13/31	7/11	26/37	46/81
f	.47	.56	.59	.56	.41	.64	.70	.59
c	3,080	2,660	830	1,520	4.510	2,100	1,110	1,920

B) Two boats seine

	blue-fin-tuna				yellow-fin-tuna				young-tuna			
	G	I	S	Total	G	I	S	Total	G	I	S	Total
n/N	27/85	38/110	53/120	119/315	2/5	4/7	11/14	17/26	3/3	1/7	5/9	9/19
f	.33	.34	.44	.38	.40	.57	.78	.65	1.00	.14	.55	.47
c	7,580	3,430	1,630	3,600	3,550	1,850	430	870	5,420	2,580	1,260	2,860

	skipjack				mixed species			
n/N	5/5	8/10	20/28	33/43	3/6	7/7	8/8	18/21
f	1.00	.80	.71	.76	.50	1.00	1.00	.86
c	4,060	2,460	1,010	2,070	5,190	2,060	1,630	2,540

Remark:
G: Great shoal, I: Intermediate shoal, S: Small shoal
$f = n/N$
n: Numbers of haul catched, N: Total numbers of haul,
c: Average catch for a haul catched (Kan)

上で，カツオ・キハダ，混り群は他の魚群にくらべ漁獲し易いように思われるが，c の値ではマグロが最も大きいので，必ずしもそのように断定は出来ないであろう。なお，混り群の主体はカツオであるから，カツオが漁獲し易ければ，混り群も漁獲し易いことになろう。全体としては 42% で，イワシ・アジ・サバにくらべ，はるかに漁獲は困難である。

また，1そうまきと2そうまきを比較すると，2そうまきは f の値ですべての魚種について上廻り，c の値でもキハダ以外は上廻るので，一応カツオ・マグロまき網では，2そうまきが有利と見てよかろう。

§. 魚群の生態別の有漁率

各魚種について，魚群の生態別の有漁率を5カ年の資料を一纏めにして調べてみると，Table 4 のようである。ここでも一応，1そうまき，2そうまきとに区別して調べたが，1そうまきと2そうまきとで特に違つた点は見当らず，また，2そうまきでは，各群に属する資料数が少くなるので，Table 4 では1そうまき，2そうまきを合せた資料を示すことにした。

すべての魚種を通じて，発見回数の最も多いのは，鳥付・ハネ群で，素群は比較的少い。また，木付・サ

Table 4. Values of f and c for behaviours of various species of fish

		素　群 Sa	トリツキ Sb	ハ　ネ Sc	エサモチ Sd	トロミ Se	シラワキ Sf	木 付 Sg	サメ付 Sh	鯨　付 Si	不　明 Sj
blue-fin-tuna	n/N (f)	6/23 (.26)	61/160 (.38)	82/366 (.22)	19/32 (.60)	23/50 (.46)	8/18 (.44)			2/2 (1.00)	18/65 (.28)
	c^{Kan}	2,590	3,510	2,640	3,640	3,750	3,920			6,750	3,730
Sword-fish	n/N (f)	1/1 (1.00)	3/6 (.50)	3/12 (.25)	0/3						
	c	240	640	80	0						
yellow-fin-tuna	n/N (f)	1/2 (.50)	17/33 (.51)	46/97 (.47)	8/16 (.50)	8/12 (.57)	4/4 (1.00)	1/1 (1.00)		2/3 (.67)	12/23 (.56)
	c	2,500	800	1,260	1,070	1,240	3,840	540		3,630	470
young-tuna	n/N (f)	1/13 (.07)	6/25 (.24)	16/48 (.33)	6/12 (.50)	9/16 (.56)			1/3 (.33)		2/9 (.22)
	c	1,880	2,500	1,580	900	1,970			1,970		4,600
skipjack	n/N (f)	21/42 (.50)	21/57 (.54)	27/53 (.51)	22/27 (.81)	34/51 (.67)	21/29 (.72)	3/4 (.75)	10/11 (.90)	7/12 (.58)	14/40 (.35)
	c	1,460	1,510	990	1,430	1,150	1,850	3,190	2,460	1,640	2,900
mixed-shoal	n/N (f)	5/8 (.62)	8/12 (.67)	16/26 (.61)	5/6 (.83)	10/16 (.62)	3/4 (.75)	2/2 (1.00)	2/2 (1.00)	5/6 (.83)	8/20 (.40)
	c	1,810	1,390	2,400	1,200	5,400	760	1,170	1,890	2,600	800

Note. In this table, the writer employs brief notations expressing 10 typles of shoals, respectively, as shown below:

素　群	shoal with no association	Sa
トリツキ	shoal with birds	Sb
ハ　ネ	shoal with jumping members	Sc
エサモチ	shoal with baits	Sd
ト ロ ミ	shoal swirling near the sea-surface	Se
シラワキ	shoal baiting near the sea-surface	Sf
木　付	shoal with timber	Sg
サ メ 付	shoal with shark	Sh
鯨　付	shoal with whale	Si
不 明 群	shoal of indistinct typle	Sj

メ付・鯨付群はカツオと混り群で多少みられるが，他の魚種では稀である。木村[1]によれば，カツオ釣漁場において，カツオの生態別の発見率では，鳥付・素群・サメ付が多く，鯨付・木付・エサモチ・ハネ群が少いとされているが，まき網漁場では鳥付・ハネ・トロミ・素群が多く，サメ付・木付・鯨付が少く，エサモチ・シラワキがその中間にあり，その順位がカツオ釣漁場と多少くい違つているのは，漁場の違いによるものと考えられる。

最も漁獲率の高いのは，すべての魚種を通じてエサモチ・トロミ・シラワキ群である。これらの群は何れも，その習性上移動性の少い魚群であるから，漁獲し易いのは当然と思われる。殊にエサモチ群はカツオ釣では漁獲の対象になりにくい群であるが，まき網では 50% 以上の漁獲を挙げ反対の現象を示す。なお，付物群は発見回数は少いが，有漁率は高い。また，各魚種について，生態別の有漁投網1回当り漁獲量 c を求めた結果 (Table 4), f と c とは関係がみられなかつた。更に，群の大きさと生態との関連性も調べたが，特に密接な関係は求められなかつた。

§. 1そうまき・2そうまきの比較

前述のように，1そうまきと2そうまきとでは，2そうまきの方が，やや有利であるという結果を得たが，ここでは年度別．船別に分けて，更に検討してみた。

昭和 30 年以来，従来の1そうまき漁船を組合せて，2そうまきに編成して操業したが，その結果を1そまきの成績と比較すると Table 5 のようである。

Table 5. Comparison of the difference in catching power between one boat seine and two boats seine

Year	One boat Seine						Two boats Seine								
	n/N	f	Kan c	n/N	f	c	n/N	f	c	n/N	f	c	n/N	f	c
1955	A (178.5ton)			B (148.6)			C・D (137.5 / 123.0)			E・F (163.5 / 123.0)					
	39/94	.41	1,850	33/79	.40	1,900	28/54	.52	2,940	24/48	.50	1,900			
1956				B			C・D			E・F			A・B		
				47/59	.68	2,320	36/84	.43	3,650	45/86	.52	2,210	4/11	.36	5,470
1957	A			B			C・D			E・F			G・H (80.9 / 80.5)		
	15/37	.24	2,600	22/45	.49	1,820	15/51	.29	4,420	19/49	.39	2,580	30/56	.53	3,200

(A, B, ····H: name of boats)

これによれば，昭和 30・32 年度には2そうまき漁船は，1そうまき漁船より有漁率でやや高い値を示したが，昭和 31 年度には，2そうの方が有漁率が高いとはいえない。しかし，c の値では総体的にみて2そうまきが大きく，この表からすると，前の結果と同様2そうまきが有利といえる。実際に東北，三陸沿岸のカツオ・マグロまき網船では，年々1そうまきは減少し，2そうまきは増加する傾向が顕著である。

終りに御懇切な御指導並びに論文の御校閲を賜つた田内森三郎博士，及び資料蒐集に御援助を頂いた大洋漁業株式会社喜多山巖氏に深謝する。

文　　献

1) 木村喜之助: カツオ群の性状，東北水研々究報告第3号，(1953).

白熱灯及び螢光水銀灯の集魚効果と水中照度

草　下　孝　也

(1959 年 3 月 6 日受理)

FISH GATHERING EFFECTS AND SUBMARINE ILLUMINATION OF THE INCANDESCENT AND FLUORESCENT MERCURY-VAPOUR LAMPS.

Takaya KUSAKA*

On the Tachibana Bay of Nagasaki Prefecture purse sein anchovy fisheries, using lights, is carried on (Fig. 1). The author investigated the fish gathering effects of lamps. One Incandescent lamp of 2 KW, (1 KW, 2 globes, D. C. 100～120 V) was generally used and another Fluorescent mercury-vapour lamp of 2 KW, (1 KW, 2 globes 100 V, A. C. 60 cycles) was specially prepared for this experiment with a 6 KW A. C. dynamo on a boat (Plates). The author compared the submarine illumination under each lamp and also the fish gathering effects of each lamp.

The fish gathering effect of the mercury vapour lamp was better than the incandescent lamp. This was especially true during the early period after lighting, when fishes of comparatively medium length gathered (scomber and so on). In this case the fishery was mainly for anchovy. The fish school that gathered under the mercury-vapour lamp were swimming actively. However, during the later stages on the illumination of the mercury-vapour lamp it was found necessary either to weaken the illumination to change the lamp to the incandescent variety or find some means by which the illumination of the mercury-vapour lamp could be maintained.

The author supposes that the effective illumination for the gathering of anchovy is below 0.1 Lux. The illumination of the mercury lamp is about 30% more than that of the incandescent lamp and this is proportional to one dimension of length in water. (Figs. 2 & 3).

ま え が き

長崎県の橘湾において，昭和 33 年8月6日より9月5日に至る間，この水域の主な漁業であるカタクチイワシ巾着網の灯船に，交流発電機を設備して螢光水銀灯による集魚を行ない，水銀灯及び従来の白熱灯の集魚効果を観察し，また，これら集魚灯の操業中の実際の水中照度を測定し，これらの効果を比較検討した。

この漁業試験は長崎市の赤岩隆治氏が計画し，交流発電機，螢光水銀灯集魚装置一式を準備し，長崎県南高来郡小浜漁業組合長関直勝氏の御尽力により，同所属丸石組の方々の全面的協力のもとに行なつた。また東大助教授佐伯有常氏の海洋観測法指導のもとに，水産学科学生浅間功，佐伯靖彦，飯塚忠光の諸君が測定実験に従つた。この報告をするにあたり，これらの関係各位の御尽力に深く御礼申上げる次第である。

環境及び漁業

本漁場は長崎県の島原半島にかこまれた橘湾（旧称千々石湾）の小浜，千々石沖合の水域で，例年8月初旬から，湾内にカタクチイワシが来遊するので，夏から冬にかけて，巾着網による漁が行なわれる。この水域で漁業の対象となる主な魚種はカタクチイワシのみであつて，サバ，アジ，カマス，コノシロ等も多少棲息するが，まとまつた漁業は行なわれない。橘湾は西南方向が天草灘に面し，湾内は水深 37 m 未満で極く

* 東大農学部水産学科 (Fisheries Dep. Fac. Agr. Univ. Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo, Japan).

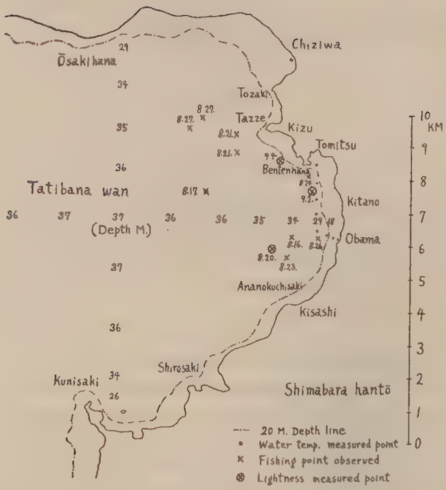


Fig. 1. Testing Ground

浅く，西南風を除けば海上は穏かで，操業しやすい。しかし，資源が貧弱なので巾着維は無動力のみが許可されているので，網船は引船が引いて網を張るが，締結は人力でろくろを巻いて行なつている。魚群が濃い時期は昼間の漁を主とするが，魚群の少ない時期には夜間集魚灯（3 KW 制限）によつて魚を集めて漁をする。従つて，網一統の編成は魚探兼灯船及び灯船各1隻，引船2隻，網船2隻，運搬用伝馬船数隻の如き多数からなつている。

暗夜に，先ず灯船が出発し，魚探機によつて地点を選び，両灯船は約 300 m 間隔をとつて投錨し，各船 1 KW 白熱球2個づつを点灯して集魚する。

試験実施期間は漁期初めにあたり，魚群が少ないので，大体一晩中集魚を続け払暁になつて投網するので集魚は数時間に及ぶ。従つて，この間に水中照度の測定，海洋観測等を行なうのに好都合であつた。

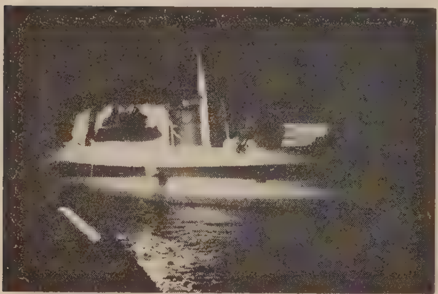


Plate 1. Fish gathering by 2 KW incandescent lamp



Plate 3. A. C. dinamo and distributing board in engine room of the test lighting boat



Plate 2. Illumination set for incandescent globes (right) and mercury globes (left)



Plate 4. Test lighting boat with illumination set

この灯船の1隻に交流電源を設備することとし，その交流発電機は1台で白熱灯との切換が出来るよう，出力 6KW のもので，これに調整切換用配電盤と水銀灯用コンデンサーを装置した。水銀灯は和光電気製 1KW 螢光水銀灯を2個づつ使用した。この水銀灯の光線は殆んど白色光に近いものに設計されているので電灯を直接見ると白熱灯と大差を感じないのであるが，実際に海上で点灯してみると，やはり青白い感じが強く，海上を一見すれば直ちに水銀灯を識別することが出来た。

このように，2隻の灯船の一方を従来の白熱灯，他方を水銀灯として，近接地点で集魚し，漁獲して効果を比較する計画をたてた。しかしながら，実際には準備が遅れたり，海上観測が天候に左右され，まとまつた照度測定をする機会が少なく，また，魚群が少なかつたので，計画の如く直接漁獲の比較をするまでに至らなかつたが，一応，両灯の水中照度について実際漁業中の資料を得て，両光源を比較することが出来た。

海 況 調 査

橘湾東部の水深は，ほぼ 36m で大部分が平坦な泥質の海底で，岸に近づいて水深約 20m 以浅になると陸地の影響で水質が異なり，また，浅いために網の操作が困難である。

海況観測については，水温及び透明度についての結果を記す。

Ⅰ．表面水温（富津より小浜沖約 1km に至り，更に小浜突堤に至る8地点）

日　時　　8月21日12時20分～13時30分

天　候　　快晴

気　温　　30.3～30.9°C

	地　点	表面水温
1)	富津（岸より 200m）	27.9°C
2)	富津―北野沖間	27.6 〃
3)	北　野　沖	27.6 〃
4)	北野―小浜沖間	27.4 〃
5)	小浜沖約 1km	27.6 〃
6)	〃　約 500m	27.7 〃
7)	〃　約 200m	27.8 〃
8)	〃　突堤内	30.0 〃

Ⅱ．漁場の水温（弁天鼻沖 4km の地点）

観測日時 月 日	時 分	気温 °C	水温 °C 水深 0m	5m	10m
8. 17	23.30	27.9	27.8	27.4	26.6
8. 18	01.10	27.6	27.8	27.6	26.6
〃	03.30	27.6	27.6	27.2	26.6

上の如く，気温の変化は少なく，夜間の気温と水温の差は殆んど見られない。水深によつて，水温に躍層があれば，魚群の行動に影響を与えると考えられるが，ここではそのような躍層は見られず，水深に従つて僅かに水温が低下しているにすぎないので，魚群に及ぼす水温の影響は考えなくてもよいものと思われた。

Ⅲ．海水の透明度

水中照度測定の際の海水の透明度が問題であるので，透明度の測定を行なつた。しかし，夜間は集魚灯の照明下の測定であるので，昼間の測定と対照するようにした。なお，透明度測定には直径 30cm の白円板を使用した。

日時 月 日	時 分	地点	光源			透明度
8. 21	00.50	小浜沖 2 km	白熱灯	2 KW	100 V	8 m
〃	12.30	富津（水深 19.5 m）	昼間（晴）			10 m
〃	13.30	小浜沖 2 km	昼間（〃）			16 m
〃	17.30	小浜沖 1 km	斜陽（〃）			11 m
8. 24	00.50	小浜沖 1 km	白熱灯	2 KW	120 V	9 m
9. 2	03.00	北野沖 1 km	水銀灯	2 KW	110 V	9 m
〃	04.40	〃 〃	白熱灯	2 KW	120 V	8 m
9. 4	02.00	弁天鼻西 500 m	水銀灯	2 KW	110 V	9 m

上記観測例によると，地点が岸に近い場合，或いは夕暮時などでは透明度が低くなつていが，通常漁を行なつている水域では，諸条件から海水の透明度はほぼ一定とみられ，昼間で 16m であり，同条件の透明度が夜間白熱灯または水銀灯の各々 2 KW の照明下では約 9m と推定された。

集 魚 効 果

ここの観察では，集魚灯に集つた生物は，一般に灯下採集で見られる生物の他に，カニの幼生やカタクチイワシの寄生虫が多く集るのが見られた。魚類では対象とするカタクチイワシは勿論であるが，このほか，カマス，サバ，コノシロ，アジなどが比較的に多く，その他，シイラ，サヨリ，ダツ，バショウカジキの幼魚，トビウオの幼魚などがよく来游した。

灯光の集魚効果について，従来の概念よりすると，集魚灯の光線の波長，即ち，色調によつて集魚状態が異なり，――1）赤色光では魚群が濃密に狭い範囲に集り，行動が不活潑になる。2）黄色光ではよく集魚され群の動きがやや鈍くなり，灯下につきがよい。3）青緑色光では広い範囲に集るが，行動が活潑で敏捷に泳ぎまわる。――という実験結果が得られている。

従来の白熱灯光線は上記の黄色光の場合に，水銀灯光線は波長が短かく青白い光で，上記の青緑色光の場合に当たると考えて，両者の集魚状況を観察したのであるが，その結果はやはり白熱灯では魚が落着いてよく集るが，水銀灯の場合では広い範囲に集つて動きが活潑で落着かない傾向がある。

魚の種類については，カタクチイワシもよく集つてくるが，水銀灯では灯の真下の逆円錐形の範囲には魚がみられず，その外側半径 20〜60 m 位の範囲に椀状に魚群が探知された。白熱灯の場合でも灯の真下には魚が集らず，その外側半径 10〜40 m 位の範囲に魚群が探知された。これらから，カタクチイワシの集魚に適当な照度は 0.1 Lux 以下ではないかと推察される。従つて，水銀灯は集魚の初期には光力があつてよいが，集魚後は光力を低下させるか，或いは白熱灯に切換えるなどの操作を行なえば，水銀灯の効果を活用することが出来ると考える。また，サバ，カマス，アジ等の集魚効果がよく，特にサバの来游が顕著であるので，螢光水銀灯は集魚灯として充分活用出来るものと判断された。

水 中 照 度

水中照度計（科学研究所製）は光電池をおさめた垂下部にキャップタイヤコード 50m をつけ，船上の電流計（0〜15，0〜30 μA）につなぎ，読まれた電流値を換算して照度を求めるもので，測定出来る照度範囲はほぼ 0.1〜55 Lux である。この螢光水銀灯の波長分布は白熱灯のそれに近似させて製作あれてはあるものの，この照度計による照度の対比は適当ではないと思うが，現地観測のそのままの測定値を示すこともある意味があると考え，測定結果を整理すると Fig. 2 & 3 の如くである。

両者を比較してみると，測定は同時ではないが，透明度は共に 9m で，海上観測の条件としては両者相違無しとみることができる。光源の電力は，白熱灯では 2.4 KW（1 KW 球 2 個，直流 120 V）であり，水銀灯では 2 KW（1 KW 球 2 個，交流 60 cycle 100 V）であるので，水銀灯の電力消費量は約 2 割節減の状態において，水銀灯の水中照射範囲は同じ明るさの部分が，距離にして白熱灯の場合の約 3 割遠方迄拡がつて

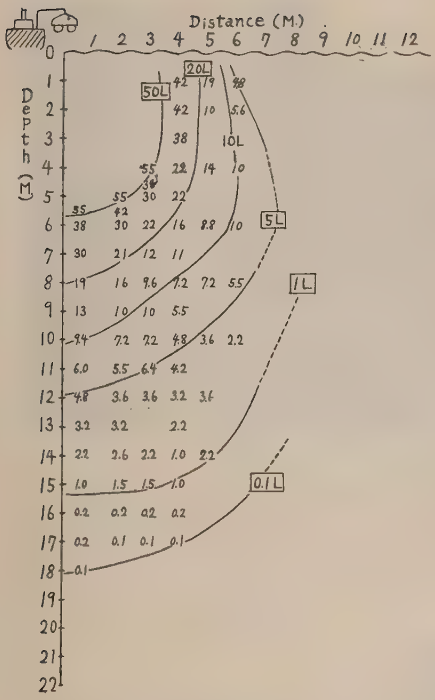


Fig. 2. Submarine lightness of 2 KW Incandescent Lamp (Lux)
1 KW. 2 globes 120 V, D. C., off the coast of Obama, Aug. 20th 1958, transparency 9 M. under the lamp.

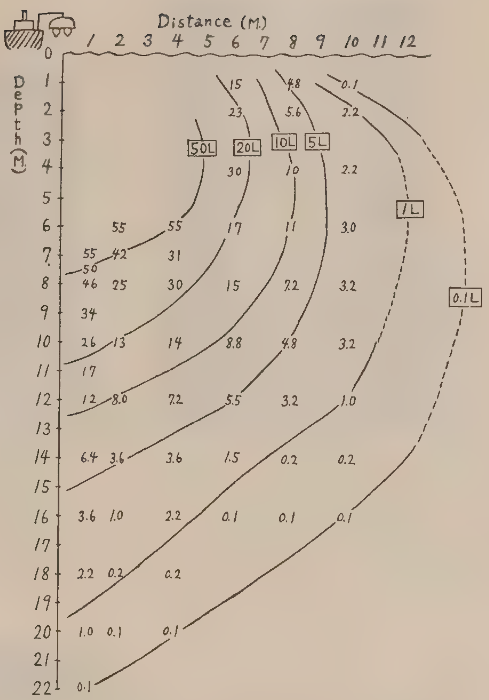


Fig. 3. Submarine lightness of 2 KW fluorescent mercury-vapour lamp (Lux)
1 KW. 2 globes 100 V, A. C. 60 cycles, off the coast of Obama, Sep. 2nd 1958, transparency 9 M. under the lamp

おり，光源から同じ距離の部分の明るさで較べると白熱灯の 2～5 倍の明るさとなつている。また，光線の海中でのひろがりがよく，立体的にみると白熱灯では等照度の曲面は灯の直下に壺状となつているのに対して，水銀灯では広く椀状にふくらみをもつている。従つて，集魚に有効な明るさの部分の容積を考えると水銀灯は白熱灯の 3～4 倍となるので，従来の数倍の魚群を集めることが出来，適切な方法によつて漁獲を向上させることが可能である。

文　　献

Tadayoshi SASAKI (1950): On the color of the fish attracting lamp. 本誌, Vol. 16, No. 7.

PAPER CHROMATOGRAPHY AND PAPER ELECTROPHORESIS OF FISH INSULIN

Terutake HONMA*
(Received Oct. 6, 1958)

Studies on the amino acid sequences and the species differences in insulin have been reported for several sources of this protein[1,2], but little information is available as yet concerning the structure of fish insulin[3,4]. It seems of interest to clarify the peculialities of fish insulin in comparison with mammalian insulin. The characteristic behavior of fish insulin solution against acid-heat treatment at about pH 1.7 found in this laboratory[5], may be considered as an evidence for some specific chemical bond structure which fish insulin molecule possesses in the solution.

The purpose of the present study is to survey the data of paper chromatography and paper electrophoresis for native and acetylated fish insulin to find differences, if any, with those for beef insulin. The following description deals with also the information gained on this occasion.

Experimental

Materials—Bonito, *Katuwonus vagans* LESSON and tunny, *Thunnus orientalis T.* and S. insulins were used. The method of preparation of these fish insulin specimens was as follows: The LANGERHANS' islet tissue having been stored in saturated aqueous solution of picric acid was submitted to filtration with suction, ground and extracted with 70 per cent aqueous acetone. The filtrate from the extract was dropwise poured into a large volume of acetone. Then, a small volume of concentrated hydrochloric acid was added to the acetone solution until the precipitation of insulin hydrochloride occurred no more. The protein precipitate was separated and dissolved in a small volume of water, then separated again from the solution by salting out with 25 per cent sodium chloride. The precipitate was redissolved in water and the protein was reprecipitated by the addition of sodium chloride to 15 per cent concentration. The insulin protein was dissolved in dilute hydrochloric acid. The solution was brought to pH of about 5.3 by addition of aqueous sodium hydroxide. Further purification was achieved by the method of SCOTT[6]. Thus, we obtained about 18 I.U. per mg. amorphous fish insulin.

For comparison test was used a crystalline specimen of beef insulin prepared in our laboratory by the method of ROMANS et al[7].

Acetylated fish insulins with five different levels of acetylation were prepared by

* Shimizu Pharmaceutical Co., Ltd., Shimizu, Shizuoka Pref. Japan (本間輝武, 清水製薬株式会社).

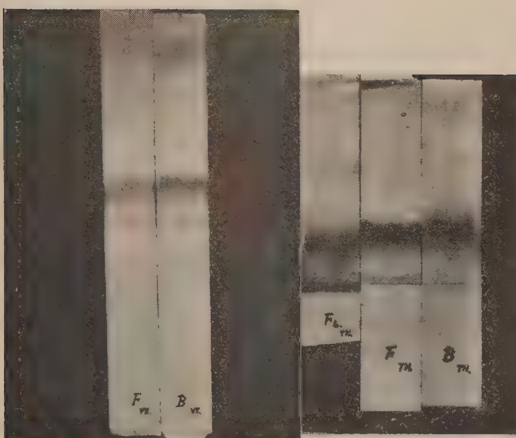


Fig. 1. Paper electrophoretic patterns of insulin.
1) Veronal buffer pH 8.6, $\mu=0.1$, 5 hours, 340 V.
*B*ve....Beef crystalline insulin
*F*ve....Bonito insulin
2) THEORELL buffer pH 10.0, $\mu=0.07$, 5 hours, 340 V.
*B*th....Beef crystalline insulin
*F*th....Tunny insulin

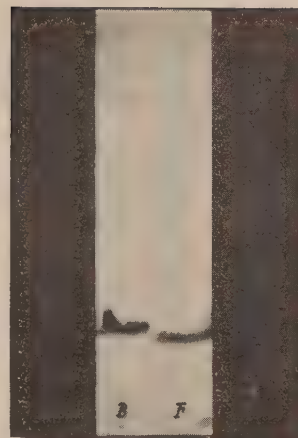


Fig. 2. Paper electrophoretic patterns of bonito and beef insulins. Buffer 33 per cent acetic acid, 10 hours, 200 V.
B....Beef crystalline insulin
F....Bonito insulin

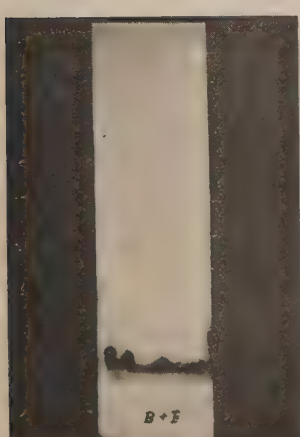


Fig. 3. Mixture of beef and tunny insulins. Buffer 33 per cent acetic acid, 10 hours, 200 V.



Fig. 4. Paper chromatographic bands of beef insulin (above) and bonito insulin (below) obtained by developing their mixture solution with acetic acid—butanol—water.

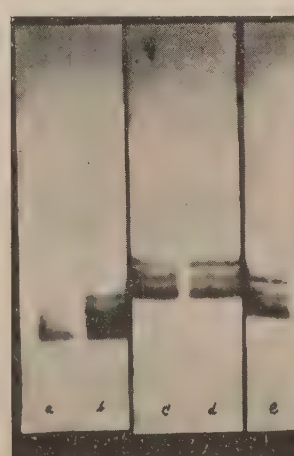


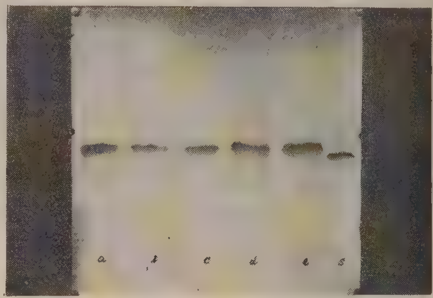
Fig. 5. Electrophoretic patterns of acetyl bonito insulin. Buffer 33 per cent acetic acid, 10 hours, 200 V. Acetylation degrees of the preparations is described in the text.

the method of SLUTERMAN[8].

Methods—Total nitrogen was determined by the azotometric technique of IWASAKI[9]. Amino nitrogen was determined by applying the method of YAMAGISHI and YOKOO[10] to the azotometry.

The paper chromatography was carried out with acetic acid, butanol, water (1:3:4) at a pH of 2.6 as the solvent[11].

Fig. 6. Paper chromatograms of acetyl bonito insulin (a—e) and unmodified bonito insulin (s) developed with the solvent of Fig. 4.



The apparatus used for the paper electrophoresis was essentially the same as that described by KUNKEL and TISELIUS[12], in which the paper was held pressed between two glass plates. Evaporation of water from the paper was prevented by applying grease to the edges of the plates. The electrophoretic runs were carried out in a cold room at 2–5°C., and the starting line on the paper was in the middle position between the cathode and the anode. A sample of the protein solution was applied on the starting line in a band of width about 0.5 mm. The protein band was stained with 0.1 per cent solution of bromophenol blue in 95 per cent ethanol which had in turn been saturated with mercuric chloride. The paper to be stained was passed through the dye solution, and the ethanol was removed by air-drying. The excess dye was then removed by through washing in 1 per cent acetic acid.

Three buffers of veronal (pH 8.6, μ 0.1), THEORELL (pH 10, μ 0.07) and 33 per cent acetic acid (pH 1.7) were used.

Results and Discussion

As seen in Fig. 1, fish insulin and beef crystalline insulin migrated toward the anode by about 4 cm. from the starting line in veronal buffer or THEORELL buffer under the electric pressure of 340 volts during 5 hours. The migrated insulin bands were somewhat diffused but showed no difference in mobility between the two samples.

Sluterman recommends to use 33 per cent acetic acid as the buffer for paper electrophoresis of insulin[8]. Fig. 2 shows the electrophoretic patterns obtained with fish insulin and beef crystalline insulin in 33 per cent acetic acid under the electric pressure of 200 volts after 10 hours. The patterns traveled toward cathode by about

10 cm. from the starting line as a well defined band without any diffusion. In a preparation of low potency, about 7 I.U. per mg. of bonito insulin, however, any well defined pattern is hardly found in the same electrophoresis, while the insulin band can be easily distinguished from the band of impurities, showing almost the same mobility as that of a fish insulin of high potency. The apparent mobility of fish insulin in 33 per cent acetic acid, in opposition to the alkaline buffers, is somewhat higher than that of beef crystalline insulin.

When a mixture composed of solutions of fish and beef insulins was applied to an electrophoretic run in the same way as above, two bands clearly separating from each other, in which the faster is fish and the slower is beef, were obtained (Fig. 3).

Mutual separation of the two insulins mixed in a solution can be attained also by paper chromatography with solvent previously described (Fig. 4). In the chromatogram fish insulin shows a lower Rf (0.5) than that of beef crystalline insulin (Rf 0.6).

From these experimental results the difference between the two insulins is demonstrated at the low pH which enables the insulin molecule to acquire a maximal quantity of positive charge. Concerning insulin SLUTERMAN tentatively observed a linear relationship between the charge and the mobility at the low pH[8]. In a solution of this pH, it can thus be assumed that fish insulin is more strongly charged than beef insulin. This may be proved also by the following experiment.

It has been well known that acetic anhydride is a specific agent acetylating the amino groups in proteins. If insulin is treated with this reagent, the charge of this protein will be diminished in a solution of low pH because of the masking effect toward the amino groups. For the present investigation bonito insulin preparation of five different levels of acetylation (a) 38 per cent (b) 45 per cent (c) 49 per cent (d) 72 per cent (e) 84 per cent, calculated from their free amino groups, were obtained. The figures are not very accurate because sodium content was not determined for these preparations. In Fig. 5 the corresponding patterns of the preparations in 33 per cent acetic acid under a definite condition mentioned above are presented. Three bands are apparent, coinciding with SLUTERMANS' paper[8]. With increasing acetylation of the protein, bands of lower mobility come into appearance while those of higher disappear. In Preparation (e), however, a band with no movement is detectable though slightly. The preparations, when chromatographed with the same solvent as that previously described, show Rf (0.55) higher than that found for unmodified bonito insulin (Rf 0.49) (Fig. 6). Therefore, more highly charged insulin has higher mobility and lower Rf than those of more weakly charged insulin under the described condition.

It may not be accepted that fish insulin used in this experiment differs by far from beef crystalline insulin for its purity because they are almost equal contents of total nitrogen (bonito insulin 15.6 per cent, tunny insulin 15.2 per cent and beef crystalline insulin 14.8 per cent) and also in biological activity. Tentatively we can

speculate the molecule of fish insulin to have more dissociable groups as compared with beef insulin in their acidic solution.

The author expresses his deep gratitude to Prof. W. Shimizu for his kindness shown in publishing this manuscript. The author's thanks are due to also Mr. H. Ashizawa of this laboratory for his encouragement to push this work.

Summary

Under conditions in which insulin molecule has a maximal positive charge, comparison of paper chromatographic and paper electrophoretic behaviors was performed between fish and beef insulins. In 33 per cent acetic acid fish insulin migrates faster than beef insulin, whereas it shows lower Rf when is chromatographed using acetic acid-butanol-water (1:3:4) solvent.

References

1) LENS J. and EVERTZEN A.: *Biocim. et Biophys. Acta*, 8, 332-338 (1952).
2) HARRIS J. I., SANGER F. and NAUGHTON M. A.: *Archi. Biochem and Biophys.*, **65**, 427-438 (1956).
3) MURAKAMI M.: Yuki Kagaku no Shinpo, No. **9**, Kyooritsu shuppan, Tokyo, P. 274 (1954).
4) NAGASAWA K. and NISHIZAKI S.: Bull. National Hygienic Laboratory, **74**, 179-183 (1956).
5) HONMA T. and HIRAOKA T.: *Yakugaku zaashi*, **78**, 1076 (1958).
6) SCOTT D. A.: *Biochem. J.*, **28**, 1952-1603 (1934).
7) ROMANS R. G.: *Recent Progress in Hormone Research*, **10**, 241-263 (1954).
8) SLUTERMAN L. A. E.: *Biochim. et Biophys. Acta*, **17**, 169-176 (1955).
9) IWASAKI K. and YAMAGISHI M.: Seikagaku, **23**, 207 (1952).
10) YAMAGISHI M., MASUDA T., YOKOO M., ASAI M. and KUWADA S.: *Pharm. Bull.*, **3**, 1-4 (1955).
11) ROBINSON F. A. and FEHR K. L. A.: *Biochem. J.*, **51**, 298 (1952).
12) KUNKEL H. G. and TISELIUS A.: *J. Gen. Physiol.*, **35**, 89 (1952).

AN ELECTROPHORETIC STUDY OF THE SQUID ACTOMYOSIN

Juichiro J. Matsumoto*
(Received Dec. 16, 1958)

As reported previously,[1,2] efforts to isolate actomyosin from squid muscle by the ordinary method for rabbit and carp actomyosins failed to be successful. By a modified procedure, a protein fraction of the squid was obtained the solution of which showed high viscosity, and intense streaming birefringence (SB) and intense opalescence. This fraction was confirmed to be an actomyosin-like protein on the basis of the facts that it showed, on the addition of adenosinetriphosphate (ATP), not only a viscosity drop followed by recovery but also superprecipitation.[3]

The present paper deals with some electrophoretic studies, performed to confirm the identity or non-identity of the squid actomyosin-like protein with actomyosins of the rabbit and carp. Some measurements were done on carp actomyosin as control.

Experimental

Materials and methods

Unless otherwise stated methods used were the same as in the previous reports.[1,2].

Materials: Both male and female carps, *Cyprinus carpio* (body weight 276～400 g.), were used in November and December. For the material, the dorsal lateral muscle was taken up immediately after killing the fish by cutting off the head.

Mantle muscle of squid, *Ommastrephes sloani pacificus* Steenstrup, including both sexes (body weight, 238～516 g.) was used. The experiments were carried out from January to July, and the squids were live or very fresh when they were brought in the laboratory.

Preparation of carp actomyosin:

To 30 g. of minced muscle, 270 m*l*. of 0.6 M KCl was added and homogenized for 1 min. by a baffle-plated Waring blendor (～10,000 r.p.m.)[4]. The mixture was centrifuged for 20 min. by 4,000 r.p.m. (～2,800 *g*). To the supernatant, S_1, 2 volumes of water was added (0.2 M KCl), the mixture being centrifuged 30 min. by 4,000 r.p.m. After washing the precipitate, P_2, two times with 0.2 M KCl, the precipitate was

* Tokai Reg. Fish. Res. Lab., Chuo-ku, Tokyo, Japan (松本重一郎, 東海区水産研究所).
Contribution B No. 306 from the Tokai Regional Fisheries Research Laboratory, Tokyo.
Read before the Annual Meeting of the Japanese Society of Scientific Fisheries, April 2, 1958.
This investigation was supported by the grant from the Research Fund of the Ministry of Education.

brought to 0.6 M KCl by adding 2.4 M KCl solution and then subjected to dialysis.

Preparation of squid actomyosin:[1]

The precipitate, P_2, obtained by the similar treatment with carp muscle was reprecipitated at 0.2 M KCl, and dissolved into ionic strength (I) 0.6 and dialysed. In the earlier stages of the study, the fractionation was repeated two times and the ionic strength of the last sample was brought to 0.4. However, an amount of the protein deposited occasionally when the solution was centrifuged after dialysis. Since it was suspected, that the insolubilization met with in the earlier stage of the study might be attributable to the repetition of precipitation, the reprecipitation was ommitted and the last solution was brought to 0.6 ionic strength. Although these modifications seemed to make one successful in preparing the solution for electrophoresis, it was found, in the later stage of the study, that reprecipitation does not affect the solubility, when froth formation was avoided throughout the treatments.

Dialysis:

In cellophane bag, 20~50 m*l*. protein solution was dialysed against 1 *l*. of NaCl-phosphate buffer (I=0.3+0.1=0.4, pH~7.2) at 5°C, gently revoluting the cellophane bag. Usually, the buffer solution was renewed after one night and two night dialyses respectively. After a definite period, protein solution was pipetted out and centrifuged for 20 min. by 4,000 r.p.m., the supernatant being subjected to electrophoretic analysis. The buffer solution used by Dubuisson[5] was chosen in the present study.

Electrophoresis:

HITACHI HTB-type electrophoretic apparatus with Schlieren-diagonal system was used. The sectional area of the cell was 2×15 mm. and the conditions of electrophoresis were as follows: Electric field, 1.9~2.2 V/cm.; electric current, 12.0 mA; temperature, 1°C.; protein concentration, 2~6 mg./m*l*.; duration, 5 hr. To calculate the electrophoretic mobilities, conductivity of buffer solution was used for the ascending limb, and that of the protein solution for the descending limb.

Conductivity and pH:

A Wheatstone-bridge system conductance meter of ITO Electric Co. was used at 1°C., adopting 1 M KCl solution as standard. Value of pH was determined at 1°C., using BECKMAN G type glass electrode pH meter.

Results

(*A*) *Electrophoresis of carp actomyosin*

To test the experimental system of the author, results with carp actomyosin were compared with those appearing in literature.

The present preparation of carp actomyosin which corresponded to 43~50% of total muscle proteins was homogeneous as far as the salting-in curve suggests.[6] As Fig. 1 shows, the electrophoretic patterns of 6 runs for 3 samples suggested their homogeneity, either after 1 night dialysis or after 2 night dialysis. As shown in

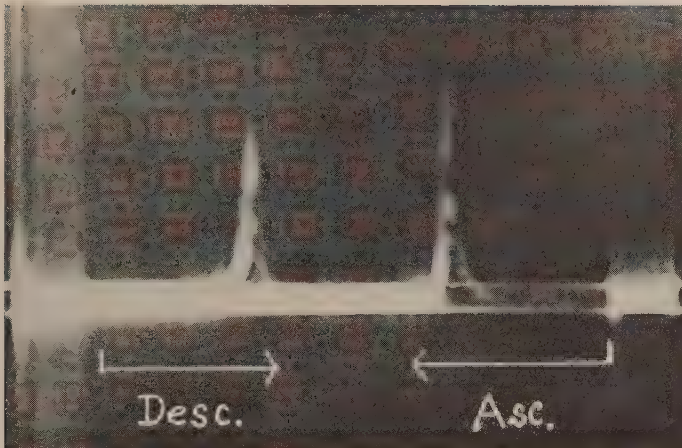


Fig. 1. Electrophoretic diagram of carp actomyosin.
18,000 sec., 2.21 V/cm., 1.5 mg. protein/*ml*.

Table 1. Electrophoretic mobilities of actomyosins of various animals

Animal	Ionic strength	pH	Mobility ($\times 10^{-5}$cm^2./V. sec.)		Note	References
			Ascending limg	Descending limb		
Carp	0.4	7.2	−3.08±0.12*	−2.63±0.11*	1 night dialysis	The present author*
	0.4	7.2	−3.10±0.07*	−2.75±0.15*	2 night dialysis	The present author*
Carp	0.35	7.1	−2.88±0.14	−2.62±0 21		HAMOIR[7]
Cod	0.4	7.4	−3.05	−2.90		CONNELL[8]
Cod	0.4	7.4	−3.30			DINGLE[9]
Frog	0.35	7.2	−3.1	−2.9		GODEAUX[10]
Rabbit	0.4	7.2	−2.7			DUBUISSON[5]
	0.4	7.3	−3.1	−2.5		DUBUISSON[11]

* Average of three runs are presented.

Table 1, the mobility was slightly higher after 2 night dialysis than after 1 night dialysis, but the figures including both cases were practically equal to those of HAMOIR with carp actomyosin[7] and found to be in the level obtained with cod,[8,9] rabbit[5,11] and frog[10] actomyosins. So the electrophoretic system of the present study was shown to be reliable.

(*B*) *A preliminary electrophoresis of squid actomyosin*

The squid actomyosin preparation containing 40~60% of the total muscle proteins

was preliminarily subjected to electrophoresis after 2 night dialysis. The patterns of a few runs were essentially equal to Fig. 2, which reveals the presence of three components in almost equal amount with each other, different from carp actomyosin. On the one hand, it was suspected that incompleteness of purification might have

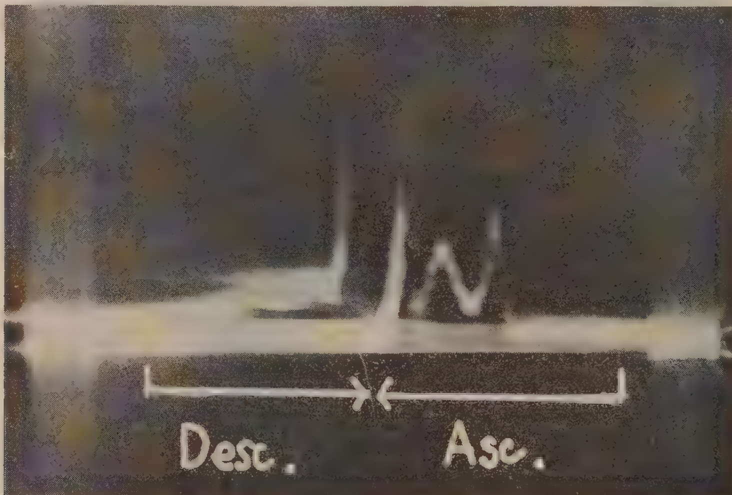


Fig. 2. Electrophoretic diagram of a squid actomyosin preparation. 18,000 sec., 2.13 V/cm., 5.5 mg. protein/m*l*.

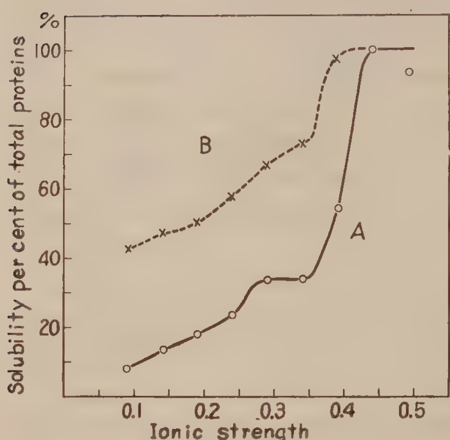


Fig. 3. Salting-in curves of a squid actomyosin preparation before and after dialysis preceding electrophoresis.
Curve A: Immediately after dissolution of the protein;
Curve B: After dialysis for 22.5 hr.
Protein concentration, 4.9 mg./m*l*.; pH, 6.7 ~6.9.

resulted in such heterogeneity, and on the other hand, the heterogeneity might be related with the instability of the squid actomyosin-like protein, as it was found previously[1,2] from the changes in solubility behaviors. Along the latter way of thinking, some change might have occurred on the actomyosin-like protein of the squid during electrophoresis. So, the salting-in curves were tested on the squid actomyosin preparation before and after 22.5 hr. dialysis against the buffer, $I=0.4$ and pH 7.2. As Fig. 3 shows, a protein fraction which is soluble at $I=0.1$ appears to have increased in amount during the dialysis. So the electrophoretic diagrams of Fig. 2 might have contained an artefact which was brought forth during the dialysis.

(*C*) *Electrophoresis of squid actomyosin after various duration of dialysis*

Although the above results suggested that electrophoresis will not allow to catch the intact state of the actomyosin preparation of the squid, it happened that an approach was made with success from the comparison of the electrophoretic diagrams obtained after various durations of dialysis.

If a solution dialysed a night was analysed, patterns were obtained as shown in Fig. 4, A and B. While, as seen in the figure, only 2 components were found in a run within 4 hr. a middle-speeded component was found to separate from the faster component if electrophoresis was prolonged beynd 5 hr. The resulting pattern consisted

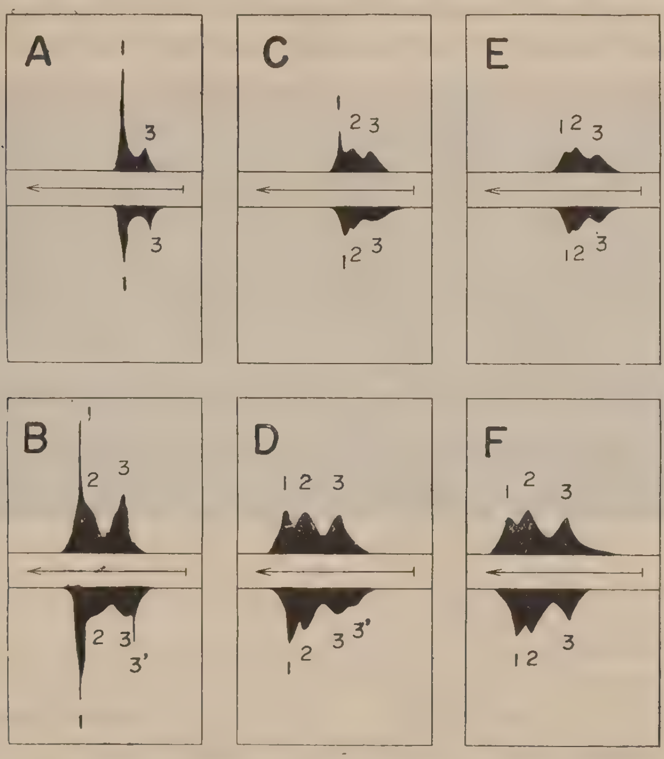


Fig. 4. Electrophoretic diagrams of a squid actomyosin preparation after dialysis of various durations.

Upper part, ascending limb; lower part, descending limb.

	Dialysis	Electrophoresis	Electric field V/cm.	Concentration mg. protein/m*l*.
A	15 hr.	10,800 sec.	1.96	5.4
B	15 hr.	18,000 sec.	1.96	5.4
C	41 hr.	10,800 sec.	2.11	4.4
D	41 hr.	18,180 sec.	2.11	4.4
E	64 hr.	10,800 sec.	2.09	4.9
F	64 hr.	18,180 sec.	2.09	4.9

of 3 components whose electrophoretic mobilities corresponded each to the levels of three components of Fig. 2.

If solutions dialysed two nights or five nights long were analysed, all three components were found as shown in Fig. 4, C∼F. Moreover, a calculation of the relative area for the three components suggested that, during dialysis, Component 1 decreased while Component 2 increased in amount (Table 2), and it was suggested that Component 1 changed into Component 2 during dialysis.

Although, in some cases, Component 3 was found to divide into two peaks, it appeared insignificant to distinguish these two from each other.

Throughout more than 20 runs with some 10 preparations, the results were substancially the same as the above. So it appeared that the actomyosin-like preparation of the squid, immediately after isolation, contains less than three components, that is, Component 1 only or Components 1 and 3 and the greater part of it (∼60%)

Table 2. Changes in the relative amount of the components of electrophoretic diagram of the squid actomyosin preparation during dialysis

Limb / Dialysis / Component	Ascending			Descending		
	15 hr.	41 hr.	64 hr.	15 hr.	41 hr.	64 hr.
1	39	21	22	} 67	34	27
2	27	38	42		32	42
3	34	41	36	33	34	31

Figures denote the relative area of each component to the total area of the electrophoretic diagram.

Table 3. Electrophoretic mobilities of the components of the squid actomyosin preparation. Average of 6 runs are presented

Component	Mobility ($\times 10^{-5}$ cm.^{2}/V. sec.)			
	1 night dialysis		2 night dialysis	
	Ascending limb	Descending limb	Ascending limb	Descending limb
1	−4.78±0.85*	−4.40±0.47*	−5.11±0.17*	−4.37±0.28*
2	−4.29±0.11	−3.74±0.25	−4.12±0.26	−3.73±0.14
3	−3.02±0.12	−3.00±0.37	−3.21±0.18	−2.97±0.37

* $\sigma=\sqrt{\frac{\Sigma(U-\bar{U})^2}{N}}$ (Standard deviation), NaCl-phosphate buffer, $I=0.4$, pH∼7.2: temperature, 1°C.; duration of electrophoresis, 3∼5 hr.; electric field, 2.07∼2.26 V/cm.

is occupied by Component 1.

The electrophoretic mobility of these components is shown in tabular form (Table 3). The figures obtained after 2 night dialysis seem slightly higher in ascending limb and slightly lower in descending limb compared with those obtained after 1 night dialysis.

It appears that the variation of mobility of each component is greater than the case with carp actomyosin. The turbidity migrated with Component 1, though its intensity was different in separate preparations.

In the last stage of the study, it happened that a preparation showing a single component as Fig. 5 was obtained. This preparation was gained by two-times re-precipitation at 0.2 ionic strength succeeded by centrifugation at 12,800 *g* using a very

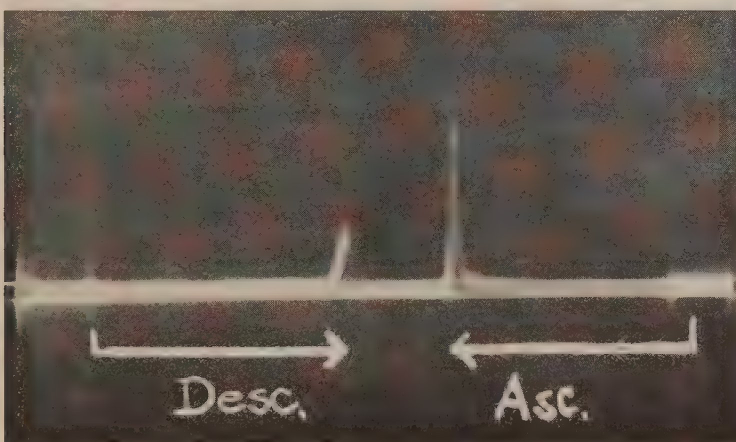


Fig. 5. Electrophoretic diagram of a squid actomyosin preparation purified by reprecipitating twice and centrifuging at 12,800 *g*.
18,000 sec.; 1.94 V/cm.; 4.39 mg. protein/m*l*.; dialysis, 17 hr.

fresh squid muscle captured in November. Since the mobility of this peak corresponded to that of Component 1, it seemed most probable that the actomyosin-like protein of squid muscle is Component 1 (Fig. 5).

Discussion

As reported previously,[2] a globulin which was isolated from squid muscle was found to be an actomyosin or an actomyosin-like protein basing on its viscosity, streaming birefringence, responses of viscosity to ATP. Moreover, marked superprecipitation was observed with this preparation.[3] However, the present results show that the squid actomyosin preparation behaves electrophoretically in a considerably different way compared with actomyosins of rabbit and carp: Firstly, the actomyosin-like protein of the squid migrated faster than others as Tables 1 and 3 show. Secondly,

it was usually accompanied with one or two impurities, while an electrophoretically homogeneous actomyosin was readily obtained in the case of the rabbit or carp muscle.

As regards the nature of Component 2, it is most probable that it was given rise to from Component 1 as a result of degradation or denaturation. Moreover, it is thought that Component 2 might be tropomyosin from the following reasons:

i) The results of the previous reports[1,2] suggest that the component which is formed during storage of the solution of the actomyosin-like protein of the squid might be less viscous, might have no or, if any, low ATP-sensitivity, and might be less precipitable at lower ionic strengths.

ii) When salt-extract of the squid muscle was stored cold for 1~2 nights and then diluted to $I=0.05$, the amount of precipitating myosins* was smaller than the amount obtained by diluting immediately after extraction. In the former cases, the precipitate increased markedly when the pH was brought to 6.5 while it was scanty at pH beyond 7.[12]

iii) When actomyosin preparation of the squid was kept cold for a night at $I=1.0$, pH~10, no SB was found even after the solution had been brought to neutrality. When the solution was lead to an ionic strength of 0.1 and pH 7 by dialysis, a fine suspension with silky lustre was formed besides the solution showed an intense SB.[13] These properties are reminiscent of tropomyosin.

Table 4. Electrophoretic mobilities of tropomyosin of various animals

Animal	Ionic strength	pH	Mobility ($\times 10^{-5}$ cm.^{2}/V. sec.)		Reference
			Ascending limb	Descending limb	
Rabbit	0.35	7.3	−5.6	−4.9	DUBUISSON[14]
Carp	0.35	7.1	−4.30	−3.90	HAMOIR[15]
Haddock	0.35	7.1		−4.90	KUBO[16]
Venus (adducter)	0.4	7.0	−2.9	−2.7	KOMINZ *et al.*[17]
Squid	0.35	7.0 7.4	−3.13 −4.10	−3.42 −3.65	YOSHIMURA[18]
Component 2 of squid actomyosin	0.4	7.2	−4.12	−3.73	Present author

iv) When the electrophoretic mobilities of Component 2 are compared with those of squid tropomyosin,[18] the former appears to be higher than the latter (Table 4). However, the former are rather close to tropomyosins of the carp[15] and the haddock[16] and slightly lower than rabbit tropomyosin.[14]

* A globulin fraction which is precipitated by dilution of salt-extracts was called "myosins" as to include myosin, actomyosin and co-precipitable proteins.

If there are two kinds of tropomyosin, tropomyosin A with lower mobility and tropomyosin B with higher mobility according to the notation of KOMINZ *et al.*,[17], Component 2 might belong to tropomyosin B as rabbit, carp and haddock tropomyosins do, while *Venus* tropomyosin shown in Table 4 belongs to tropomyosin A. Though content of tropomyosin of the squid was as low as 0.38% of fresh muscle, that of Component 2 might be higher (3%). The difference in yield between the two cases may make one suspect the identy of YOSHIMURA's tropomyosin[18] to Component 2.

However, it was stated by BAILEY and other workers[17,19-22] that tropomyosin can be isolated in high yield (25~30% of the total muscle proteins) from muscles of *Pinna* and other mollusks, and that tropomyosin is a dominant protein of molluscan muscle. Very recently, YOSHIMURA *et al.*[23] isolated by a similar way from the dehydrated squid myofibril a cystalline tropomyosin with a good yield corresponding to a greater part of the myofibrillar proteins.

It is inferred from the experimental bases of the present paper that a dominant protein, which is isolated as an actomyosin-like complex protein[1,2] from squid muscle, gives rise to an artefact which is alike to tropomyosin. The isolation methods of BAILEY[19-21]* and LAKI[22] include treatment at high ionic strength for some period[19][20][21] or treatment with KI solution[22], both of which should promote the degradation of the actomyosin-like protein of the squid. Therefore, one might think of the secondary formation of tropomyosin during isolation procedures, e.g. dialysis for long duration, from an actomyosin-like complex protein, if it might have been functioning as a contractile element in situ and isolated once in vitro. A tropomyosin, which neither has ATPase activity nor shows ATP-response of viscosity, might not carry by itself the contractile function.

Concerning other molluscan muscles, actomyosin-like proteins were isolated in terms of myosin B from *Pecten* and other shellfishes by YAGI[24] and TONOMURA *et al.*[25]. So, some actomyosin-like proteins might exist in molluscan muscles. As pointed out by KOMINZ *et al.*[17] it might be due to the lability of these actomyosin-like proteins of Molluscs that tropomyosins which were contained as a sub-unit were readily isolated from the molluscan muscles.[17,19-22]

On the other hand, RÜEGG[29] has brought forth another explanation of the abundance of tropomyosin in *Pinna* adductor: Tropomyosin molecules exist in a polymerized form, which is connected with viscous tonus in situ, besides actomyosin plays a role of the contractile element. However, as far as the squid proteins studied by the present author are concerned, tropomyosin appears to come from the actomyosin-like protein because the falls in viscosity and in ATP-sensitivity of the actomyosin preparation[2] parallel the changes as well in solubility behaviors[1] as in electrophoretic properties.

If it is reflected that the squid mantle is composed of the smooth muscles, it

* Wet method cited in the reports.

might be interesting that a contractile protein isolated from the uterus smooth muscle has some similarity to the squid protein. The uterus protein which was referred to as actotropomyosin by SNELLMAN *et al.*[30] showed an electrophoretic pattern consisting of three peaks, $-7.7\times$, $-4\times$ and -2.8×10^{-5} cm^2./V. sec. In viscometric study,[30-33] the uterus protein was found to respond to ATP, its contractile function in situ being suggested.

In either hypothesis of KOMINZ *et al.*[17] or of SNELLMAN,[30] actin should be found after the complex protein was decomposed. Nevertheless, none of three electrophoretic components of the squid actomyosin preparation can not be identified as actin according to the present interpretation. Further informations are needed before proposing a conclusion.

Further study on the relationship of the actomyosin-like protein and tropomyosin of molluscan muscles will be of significance in the comparative biochemistry of muscle contraction.

Summary

1) The actomyosin preparation isolated from the squid mantle muscle was subjected to electrophoresis at an ionic strength of 0.4 and pH 7.2 (NaCl-phosphate buffer), three components with the mobilities, $-5.1\times$, $-4.1\times$, and $-3.2\times$ (ascending limb), $-4.4\times$, $-3.7\times$, and -3.0×10^{-5} cm^2./V. sec. (descending limb), respectively, being observed usually. It appeared a characteristic of the squid actomyosin-like protein that the electrophoretic homogeneity is less readily attained by isolating procedure, while actomyosins of the rabbit and carp readily give a single pattern. However, in few examples of the squid, preparations showing a single peak of the fastest were obtained.

2) By comparing the electrophoretic patterns of different samples obtained after different periods of dialysis, and results of various experiments, a tentative interpretation was presented as follows:

Component 1, the fastest, is the actomyosin-like protein of the squid muscle, which shows high viscosity and its ATP-response. The actomyosin-like protein of the squid is higher in mobility than the ones of rabbit and carp actomyosins.

Component 2, the middle-speeded, is an artefact which is derived from Component 1 during dialysis and electrophoresis. Component 2 might correspond to tropomyosin.

With the nature of Component 3, the slowest, no reasonable explanation is obtained.

The author wishes to express his gratitude to Dr. M. MIGITA for his invaluable advice, to Prof. S. MIZUSHIMA, and to Prof. T. ANDO for their encouragement and to

Miss E. OKUYAMA for her technical assistance. The author is indebted to Prof. S. UI, Dr. H. HIRAI and Dr. G. HAMOIR for their kindness in giving advices in electrophoretical technique.

References

1) MATSUMOTO, J. J.: *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **24**, 125–132 (1958).
2) MATTUMOTO, J. J.: *Ibid.*, **24**, 355–362 (1958).
3) MATSUMOTO, J. J.: Unpublished data.
4) MIGITA, M. and MATSUMOTO, J. J.: *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **22**, 561–568 (1957).
5) DUBUISSON, M.: *Experientia*, **2**, 258–259 (1946).
6) MATSUMOTO, J. J.: *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **24**, 29–36 (1958).
7) HAMOIR, G.: *Arch. intern. physiol. et biochim.*, **63**, suppl. (1955).
8) CONNELL, J. J.: *Biochem. J.*, **58**, 360–367 (1954).
9) DINGLE, J. R.: *J. Fish Res. Bd. Canada*, **15**, 135–153 (1958).
10) GODEAUX, J.: *Bull. Acad. Roy. Belgique, Cl. Sciences*, **38**, 1163–1181 (1952).
11) DUBUISSON, M.: *Biol. Rev.*, **25**, 46 (1950).
12) MIGITA, M., MATSUMOTO, J. J., AOE, N. and SAISHU, T.: *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **24**, 51–58 (1959).
13) MATSUMOTO, J. J.: Unpublished data.
14) DUBUISSON, M.: *Experientia*, **6**, 269–271 (1950).
15) HAMOIR, G.: *Biochem. J.*, **48**, 146–151 (1951).
16) KUBO, S.: *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.*, **8**, 147–157 (1957).
17) KOMINZ, D. R., SAAD, F. and LAKI, K.: *Medical Sci.*, **9**, 118–128 (1958).
18) YOSHIMURA, K.: *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.*, **3**, 159–176 (1955).
19) BAILEY, K.: *Publ. Staz. Zool. Napoli*, **29**, 96–108 (1956).
20) BAILEY, K.: *Biochim. Biophys. Acta*, **24**, 612–619 (1957).
21) HANSON, J., LOWY, J., HUXLEY, H. E., BAILEY, K., KAY, C. E. and RÜEGG, J. C.: *Nature*, **180**, 1134–1135 (1957).
22) LAKI, K.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **67**, 240–242 (1957).
23) YOSHIMURA, K. and KUBO, S.: Published at the Meeting of the Japanese Society of Scientific Fisheries, Oct. 13, 1958.
24) YAGI, K., SASAKI, T. and MATSUMIYA, H.: *J. Jap. Biochem. Soc.*, **26**, 630–633 (1954).
25) TONOMURA, Y., YAGI, K. and MATSUMIYA, H.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **59**, 76–89 (1955).
26) TONOMURA, Y., YAGI, K. and MATSUMIYA, H.: *Ibid.* **64**, 466–479 (1956).
27) YAGI, K.: *J. Biochem.* (*Japan*), **44**, 337–346 (1957).
28) MATSUMIYA, H., MORITA, F., KITAGAWA, S., YAGI, K. and TONOMURA, Y.: *Ibid.*, **44**, 347–357 (1957).
29) RÜEGG, J. C.: *Biochem. J.*, **69**, 46p (1958).
30) SNELIMAN, O. and TENOW, M.: *Biochem. Biophys. Acta*, **13**, 199–208 (1954).
31) CSAPÓ, A.: *Nature*, **164**, 702–703 (1949).
32) CSAPÓ, A.: *Acta Physiol. Scand.*, **19**, 100–114 (1949).
33) NEEDHAM, D. M. and DAWKWELL, J. M.: *Biochem. J.*, **63**, 337–344 (1956).

IDENTITY OF M-ACTOMYOSIN FROM AQUEOUS EXTRACT OF THE SQUID MUSCLE WITH THE ACTOMYOSIN-LIKE PROTEIN FROM SALT EXTRACT

Juichiro J. Matsumoto*

(Received Dec. 16, 1958)

As reported previously, an actomyosin-like protein which shows ATP-response of viscosity and streaming birefringence (SB) was isolated from aqueous extracts of the squid mantle muscle, and it was proposed by the present author to refer to it as M-actomyosin.[1)-5)] While this protein fraction was isolated from aqueous extract, also an actomyosin-like protein fraction was obtained from salt-extract of the squid mantle muscle with yield as much as 40～85% of total muscle proteins.[6),7)] Since it was inferred that the latter actomyosin-like protein might be the dominant contractile protein of the squid muscle[8)], it was questioned whether these two actomyosin-like proteins are identical with each other or not.

In the present report, results of electrophoretic analysis and other experiments designed to answer this question are described.

Experimental

Materials and methods

Unless otherwise stated methods employed are the same as in the previous reports[1),3),6)].

Materials: Both male and female of the squid, *Ommastrephes sloani pacificus* Steenstrup (body weight 200～485 g.) captured from March to June were used.

Preparation: To 40 g. of the minced squid muscle 280 m*l*. of distilled water was added and the mixture was homogenized for 1 min. with a baffle-plated waring blendor[9)] and centrifuged 20 min. by 4,000 r.p.m. (～2,600 *g*). The precipitated residue was homogenized with 200 m*l*. of water, centrifuged, and then the residue was mixed with 750 m*l*. of water, the third aqueous extract, S_3, being obtained after centrifugation. The second and the third extracts showed marked SB, while the first none. To the third extract, S_3, solid NaCl was added into 0.2 M salt concentration, then the mixture was centrifuged for 30 min. by 2,600 *g*. The resultant precipitate was, by adding 2.4 M NaCl, dissolved into 0.6 M NaCl solution which was highly viscous and strongly streaming birefringent.

---

* Tokai Reg. Fish. Res. Lab., Chuo-ku, Tokyo Japan (松本重一郎, 東海区水産研究所).
Contribution B No. 307 from the Tokai Regional Fisheries Research Laboratory, Tokyo.
Read before the meeting of the Japanese Society of Scientific Fisheries, on October 13, 1958.

Dialysis and electrophoresis: The same methods were used as described in the preceding paper[10]. Conditions of electrophoresis are the following: Buffer solution, $I=0.4$ and pH 7.2[11]; electric field, 1.9~2.2 V/cm.; electric current, 12.0 mA; temperature, 1°C.; protein concentration 3~5 mg./m*l*.; duration of electrophoresis, 5 hr.

Results

(*A*) *Electrophoresis of the M-actomyosin preparation*

In few cases among several analyses, only 2 peaks were observed after 1 night dialysis (Fig. 1, Fig. 2 A and B), while a middle-speeded peak was usually found to appear when the same sample was analysed after 2 night dialysis (Fig. 2, C and D).

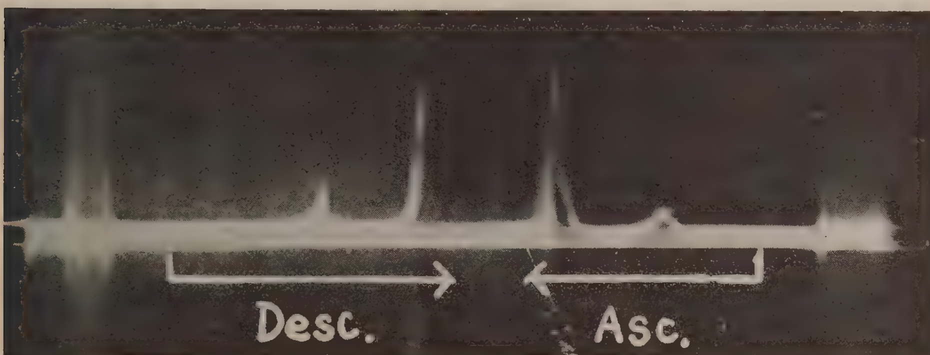


Fig. 1. Electrophoretic diagram of M-actomyosin obtained from aqueous extract of squid muscle. For experimental conditions see Fig. 2–B.

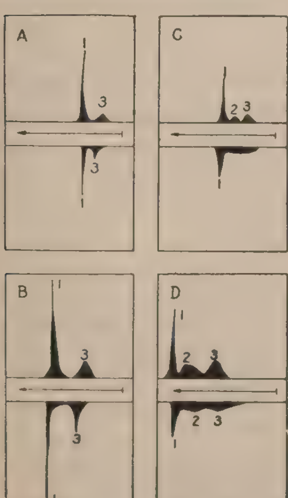


Fig. 2. Electrophoretic diagrams of M-actomyosin obtained from aqueous extract of squid, after dialysis of different durations. Upper part, ascending limb; lower part, descending limb.

	Dialysis	Electro-phoresis	Electric field V/cm.	Concentration mg. protein/m*l*.
A	18 hr.	10,800 sec.	1.93	7.0
B	18 hr.	18.000 sec.	1.93	7.0
C	42 hr.	10,800 sec.	2.15	6.8
C	42 hr.	18,000 sec.	2.15	6.8

These results are similar to those obtained usually with the actomyosin-like protein from salt extract of the squid which was reported in the preceding work,[10] although, in the latter case, a small peak of Component 2, the middle-speeded, was often observed after dialysis as short as 1 night, and, on the other hand, diagrams lacking in both Components 2 and 3 have been obtained in few examples of the preceding work.

Whereas long dialysis beyond 2 night was omitted in the present study, an electrophoretic pattern which was obtained from an unfresh squid muscle, though not yet spoiled, was reminiscent of the patterns given after long dialysis of the protein from salt extract[10] (Fig. 3).

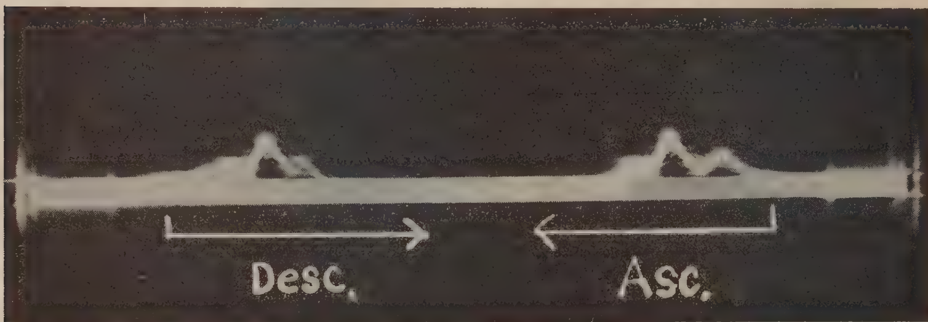


Fig. 3. Electrophoretic diagram of an M-actomyosin preparation obtained from an unfresh squid muscle. 10,800 sec.; 2.06 V/cm.; 3.2 mg. protein/m*l*.; dialysed 16 hr.

These results suggest that, in the M-actomyosin preparation, two components, Component 1 and Component 3, might be contained from in the intact state, while Component 2 might be formed as a result of degradation or denaturation of any or both of other components.

The electrophoretic mobility are listed in Table 1 wherein figures of the preceding paper[10] are presented for reference. The values for three components in ascending limb are close with each other, while those in descending limb appear slightly

Table 1. Electrophoretic mobility of the components of M-actomyosin of the squid obtained from aqueous extracts of the squid muscle
(Values after 2 night dialysis are presented)

Limb	Component	M-actomyosin from aqueous extract	Actomyosin-like protein from salt extract of the squid
Ascending	1	$-5.06\pm0.40\times10^{-5}$cm²./V. sec.	$-5.11\pm0.17\times10^{-5}$cm²./V. sec.
	2	$-4.29\pm0.42\times$ 〃	$-4.12\pm0.26\times$ 〃
	3	$-3.45\pm0.28\times$ 〃	$-3.21\pm0.18\times$ 〃
Descending	1	$-5.13\pm0.15\times$ 〃	$-4.37\pm0.28\times$ 〃
	2	$-4.37\pm0.06\times$ 〃	$-3.73\pm0.14\times$ 〃
	3	$-3.23\pm0.05\times$ 〃	$-2.97\pm0.37\times$ 〃

higher in M-actomyosin from aqueous extracts. However, if it was taken account of that the measurement of mobility is not free from ambiguity as a result of meniscus formation in such a viscous fluid, every component of both of two preparations may be practically identical with each other.

The change of the salting-in curve of the M-actomyosin preparation before and after dialysis was found as the case with the actomyosin-like protein from salt extract, but its presentation will be omitted.

Similar patterns were obtained also with the M-actomyosin preparations from another species of the squid, *Loligo bleekeri* KEFERSTEIN.

(*B*) *Dissolution of the actomyosin-like protein of the squid in water*

If the actomyosin-like protein from aqueous extracts of the squid muscle might be identical with the actomyosin-like protein from salt extract, it might happen that the latter is soluble in water. So a precipitate at 0.2 ionic strength of the actomyosin-like protein from salt extract was repeatedly subjected to extraction with water, a similar experiment with carp actomyosin precipitate being done as a control (Table 2). The ionic strength of the extract was calculated from conductivity.

As shown in the table, it was found that a considerable amount of the squid protein began to dissolve in water at the third extraction, and as much as 86% of the total amount of the used protein moved into solution with repeated extractions, a total of seven times, as far as the proteins which escaped from depositing on centrifugation for 20 min. at 4,000 r.p.m. ($\sim$2,600 g) was regarded as the "dissolved". In parallel to the increase in the dissolved protein, it was found that marked SB

Table 2. Solubility in water of actomyosin-like protein of the squid from salt extract and of actomoysin of the carp on repeated extractions

Preparation	Actomyosin-like protein of squid					Actomyosin of carp				
Yield*	40%					36%				
Extract	Protein concn.	Yield**	SB	pH	I***	Protein concn.	Yield**	SB	pH	I***
S_1	0.14	3.7	−	6.3	8.4×10^{-2}	0.07	2.8	−	7.1	2.4×10^{-2}
S_2	0.12	2.9	−	6.5	2.9×10^{-2}	0.19	8.3	−	7.0	5.5×10^{-3}
S_3	0.45	9.9	+	6.6	1.1×10^{-2}	0.34	12.3	−	7.0	1.2×10^{-3}
S_4	0.96	34.8	+	6.8	4.8×10^{-3}	0.42	16.3	−	7.4	4.7×10^{-4}
S_5	0.59	18.5	+	6.7	1.6×10^{-3}	0.22	9.8	−	6.5	2.6×10^{-4}
S_6	0.32	10.9	+	7.0	4.3×10^{-4}	0.11	5.1	−	6.7	2.1×10^{-4}
S_7	0.17	4.8	±	6.0	0.9×10^{-4}					
Total dissolved	—	85.5					54.6			
Residual	—	14.5					45.4			

* Yield of the preparation per cent of total muscle proteins.
** Yield of the dissolved protein per cent of protein subjected to repeated extractions.
*** Ionic strength.

was found in the extracts from the third to the last.

On the contrary, an actomyosin preparation of carp failed to give streaming birefringent aqueous extracts, though, against expectation, as much as 55% of the used protein was dissolved in water.

Although carp actomyosin was dissolved in a considerable amount, the actomyosin-like protein from the squid salt extract was found to be more soluble in water. That its solutions in water show SB appears a characteristic of the squid protein.

Discussion

With a view of testing the mutual identity of the actomyosin-like protein from aqueous extracts of the squid muscle and the one from salt extract, some studies were performed with results in favour of the identity of these two protein fractions.

In electrophoretic study, little differences remain. Firstly, Component 2 was smaller in the protein preparation from the aqueous extracts, but this difference will not be so significant since Component 2 might have come from the others during treatment as it was stated in the previous report[10] and confirmed in the present study (Fig. 2).

Secondly, with the actomyosin-like protein from salt extract in the preceding paper, homogeneous preparations free from Components 2 and 3 were obtained in few cases. Nevertheless, the difference in this point appears insignificant, because the greater part of the analysis in the preceding study resulted in diagrams with three components.

These results might suggest that the protein which corresponds to Component 3 is closely connected with Component 1, which might be responsible for ATP-response of viscosity and for superprecipitation.

As regards the solubility in water, it was found that the solubility is raised at the extracts with reduced ionic strengths as shown in Table 2. This relationship is similar to the data that the streaming birefringent protein in aqueous extracts of the squid muscle is deposited when the ionic strength is brought to between 0.002~0.1.[1]

Although there are some points left undissolved, it might be proved that M-actomyosin, an actomyosin-like protein of the squid muscle which has been remarkable in showing streaming birefringence in aqueous solution, is identical with the acto-myosin-like protein obtained from salt extract of the squid muscle. So it will be proposed that the actomyosin-like protein, which occupies the dominant part of the squid muscle proteins, should be referred to as "M-actomyosin", no matter whether it is isolated from salt extract or from aqueous extract. This protein, whether in situ or in vitro, readily goes into aqueous solution and shows marked SB, when it is washed repeatedly with water.

Summary

1) Some electrophoretic study was made on M-actomyosin, an actomyosin-like protein obtained from aqueous extract of the squid muscle. The actomyosin-like preparation showed an electrophoretic diagram including two or three peaks, which is similar to that of the actomyosin-like protein from salt extract of the squid muscle. Also in respect of the electrophoretic mobility each component corresponded with each other in both cases. So the two actomyosin-like protein, the one from aqueous extract and another from salt extract of the squid muscle, including the accompanying proteins, were found to be identical. There was found an indication that Component 2, the middle-speeded is rather scanty in the case with the protein from aqueous extract.

2) When a precipitate of the actomyosin-like protein from salt-extract was extracted repeatedly with water, a better part of the protein moved into solution. Moreover, marked streaming birefringence (SB) was found in the extracts as the case with the repeated aqueous extraction of the squid muscle. On the contrary, SB was never found in the case with carp actomyosin, whereas nearly half of the used actomyosin of the carp was brought in solution.

3) From these experimental bases, it was proposed that the actomyosin-like protein which occupies the dominant part of the squid muscle proteins should be referred to as "M-actomyosin" no matter whether it is isolated from salt extract or from aqueous extract.

The author wishes to express his gratitude to Dr. M. Migita for his invaluable advice, to Prof. S. Mizushima and Prof. T. Ando for encouragement, and to Miss E. Okuyama for her technical assistance. Acknowledgements are due to Prof. S. Ui, to Dr. H. Hirai and to Dr. G. Hamoir for advising in electrophoretical practice.

References

1) Matsumoto, J. J.: *Bull. Tokai Regional Fish. Res. Lab.*, **20**, 65–75 (1958).
2) Matsumoto, J. J.: *Bull. Jap. Soc. Sci· Fish.* **23**, 47–52 (1957).
3) Matsumoto, J. J.: *Ibid.*, **23**, 92–104 (1957).
4) Matsumoto, J. J.: *Ibid.*, **23**, 775–781 (1958).
5) Matsumoto, J. J.: *Ibid.*, **24**, 29–36 (1958).
6) Matsumoto, J. J.: *Ibid.*, **24**, 125–132 (1958).
7) Matsumoto, J. J.: *Ibid.*, **24**, 135–139 (1958).
8) Matsumoto, J. J.: *Ibid.*, **24**, 355–362 (1958).
9) Migita, M. and Matsumoto, J. J.: *Ibid.*, **22**, 561–8 (1957).
10) Matsumoto, J. J.: *Ibid.*, **25**, 27–37 (1959).
11) Dubuisson, M.: *Experimentia*, **2**, 258–259 (1946).

柔魚内臓の生化学的研究—I.

無機成分について

高 橋 喬

(1959 年 1 月 9 日受理)

BIOCHEMICAL STUDIES ON THE VISCERA OF CUTTLE-FISH *OMMASTREPHES SLOANI PACIFICUS*—I. CONTENTS OF INORGANIC SUBSTANCES IN VISCERA

Takashi TAKAHASHI*

In the previous paper entitled "Studies on the Complete Utilization of Whole Fish"[1),2)] it was shown that the cuttle-fish viscera seems to be a good material as domestic fowl feed, from the results of investigation of amino acid composition and B-vitamins contents in the viscera. In this paper, inorganic substances in the cuttle-fish viscera were determined and the following results were obtained.

1. As to the qualitative analysis, the cationic elements - Cu, Fe, Ál, Zn, Mn, Mg, Ca, Na, K-, the anionic elements-Cl, P, S, I-were detected. Besides these, a trace element which seems to be Cd was found. (Table 2)

2. The results of determination of these elements are shown in Table 3. It is noticeable that contents of Zn, Mn, Cu in the viscera of cuttle-fish are higher than those in fish meat and mollusc meat. There seems to be some difference in the contents of other elements among the viscera and meats.

水産動物に関する研究中，肉質部に関する研究に較べ内臓及びその他の部分に関するものは少く，殊に無機成分に関する研究は甚だ少い。内臓器官の無機成分に関する研究としては，関根等[3)]は魚類肝臓につき，柏田等[4)]はカツオ幽門垂について，里舘[5)]はスルメイカ肝臓について，HENZE[6)]，林[7)]，ALBRECHT[8)]等は軟体動物について報告している。著者等は先に魚体完全利用に関する研究[1),2)]に於て，スルメイカ内臓より飼料の製造研究を行い，内臓中のアミノ酸及びビタミン等の含量を報告したが，更にスルメイカ内臓の特性を知るため無機成分の検索を行つたので結果を報告する。

実 験

1. 試 料

昭和 33 年 4 月津市魚市場で入手したスルメイカ冷凍品で内臓の一般成分は Table 1 の如くである。

Table 1. Chemical composition of cuttle-fish viscera

Moisture	Crude Protein	Crude Fat	Ash	Total N
48.35%	15.12%	34.57%	1.184%	2.41%

2. 試料の調製

解凍後直ちに内臓を採取し水で表面を洗滌後，アルコールで脱水し，エーテルで脱脂した後，低温乾燥し

* 三重県立大学水産学部 (Fac. Fish. Pref. Univ. Mie, Japan).

て粉末とする。陽イオン定量用灰分はこの粉末を湿式灰化して調製し，陰イオン定量用灰分は粉末に 10% Na_2CO_3 溶液を加えて湿潤させ，110°C で乾燥後 500°C で灰化した。

3. 分析方法並びに結果

定性分析　陽イオンの分析には上記灰分を 0.3N HCl に溶解させたものを，また陰イオンの分析には上記の如くして調製した灰分を水溶液として用いた。分析は田村等の方法[9),10)]にならいペーパークロマトグラフによる一斉展開を行つて各イオンを分離し，確認には種々試薬による呈色反応を利用した[11),12),13),14)]。なお展開は室温で一次元上昇法，濾紙は東洋濾紙 No. 3 を用いた。$Na^{\cdot}$, $K^{\cdot}$ は炎光分光々度計により確認した。また陰イオンは常法に従う定性試験も併せ行い確認した。成績は Table 2 に示す如くである。即ち陽イオンとしては Cu, Al, Fe, Zn, Ca, Mg, K, Na の9元素を確認し Cd と考えられる元素の痕跡を検出した。陰イオンとしては S, P, Cl の3元素を確認し痕跡の I を検出した。

Table 2. Inorganic components in viscera of cuttle-fish

Group No.	Cation		Group No.	Anion	
1	$Ag^{\cdot}$, $Hg^{\cdot}$, $Pb^{\cdot\cdot}$	−	1	SO_4''	+
				SiF_6''	−
2	$Pb^{\cdot\cdot}$, $Bi^{\cdot\cdot}$, $Hg^{\cdot\cdot}$, $As^{\cdot\cdot\cdot}$($As^{\cdot\cdot\cdot\cdot\cdot}$)	−	2	SO_3'', S_2O_3''', CrO_4''	−
	$Sb^{\cdot\cdot}$($Sb^{\cdot\cdot\cdot\cdot\cdot}$), $Sn^{\cdot\cdot}$($Sn^{\cdot\cdot\cdot\cdot}$)	−		Cr_2O_7'', C_2O_4'', F'	−
	$Cu^{\cdot\cdot}$, $Cd^{\cdot\cdot}$*	+			
3	$Al^{\cdot\cdot\cdot}$, $Fe^{\cdot\cdot\cdot}$, $Zn^{\cdot\cdot}$, $Mn^{\cdot\cdot}$	+	3	CO_3'', AsO_4''', AsO_3''	−
	$Cr^{\cdot\cdot\cdot}$, $CO^{\cdot\cdot}$, $Ni^{\cdot\cdot}$	−		BO_2', SiO_3''	−
				PO_4'''	+
4	$Ca^{\cdot\cdot}$, $Mg^{\cdot\cdot}$	+	4	Cl', I'	+
	$Ba^{\cdot\cdot}$, $Sr^{\cdot\cdot}$	−		Br', ClO', CN'	−
				CNS', $Fe(CN)_6'''$, $Fe(CN)_6''''$	−
5	$Na^{\cdot}$, $K^{\cdot}$	+	5	NO_2', NO_3', ClO_3'	−

* An element which seems to be Cd.

定量分析　定性試験によつて検出された元素について次の方法により定量を行つた。

Cu:　陽イオン定量用灰分一定量を 35% HCl 2.5cc にとかし，水を加えて 100cc に稀釈し H_2S を充分に通じた後沈澱と溶液を分離し，沈澱は HNO_3 5〜10cc に溶解し，蒸発乾凋後更に 3N−HNO_3 10cc に溶解一定量となし，銅アンモニヤ法により比色定量した。比色は光電比色計により 620mμ における吸光度を測定し予め作製した検量直線から Cu を定量した。

Al, Fe:　Cu を分離した溶液は常法の如く **conc.** HNO_3 及び Sn で処理して燐酸を除き，過剰の Sn は H_2S によつて除去した後，濾液を濃縮して NH_4Cl の存在のもとで NH_4OH を加え Al, Fe を沈澱させ，更に H_2S を通じて硫化物として沈澱させ，沈澱は HCl に溶解させ Fe, Al を水酸化物として再沈澱させた。沈澱は灼熱し酸化物の合量として秤量後 **conc.** HNO_3 にとかし，Fe をチオシャン酸法により発色させ 470mμ における吸光度を測定し Fe を定量し，Al, Fe の合量から Fe を差し引き Al を算出した。

Al, Fe を分離した溶液はこれを濃縮後蒸発皿に移し，**conc.** HNO_3 5〜10cc を加え水浴上で加熱して NH_4Cl を除去し，蒸発乾凋後 0.5N−HNO_3 に溶かし一定量となし Zn, Mn, Ca, Mg の定量に供した。

Zn:　試料の一定量をとり稀釈後ジチゾン試薬による混色法[15)]により 540mμ における吸光度を比色定量した。

Mn:　過マンガン酸法[16)]により比色定量した。

Ca, Mg:　柳沢法[17)]により定量した。

Na, K:　定性分析と同一要領で調製した 0.2N−HCl 溶液を島津の炎光分光々度計で測定した。

次に陰イオン定量用として灰化した試料溶液一定量をとり沈澱が完成するまで Na_2CO_3 溶液を加え，濾過洗滌後濾液及び洗液を合す。

S: この溶液の一定量を採り稀醋酸を少量づつ加え酸性となし $BaCl_2$ の試薬を加えて常法通り重量法により定量した。

P: FISKE & SUBBAROW 法[18]により定量した。

Cl: 定性分析において I は痕跡程度より含まれていないことを確めたので Cl, I の分離を行わず VOLHARD-DRECHEL 法[19]により測定したものを Cl の量として表した。

上記の結果を一括して Table 3 に示す。

Table 3. Contents of inorganic substances in viscera of cuttle-fish

Element	mg・% (fresh matter basis)	mg・% (dry matter basis)
Cd*	trace	
Cu	33.8	65.6
Fe	7.3	14.1
Al	6.0	11.6
Zn	29.4	56.9
Mn	11.7	22.7
Ca	52.4	101.4
Mg	33.1	64.0
K	158.4	306.6
Na	123.0	238.2
S	125.6	243.1
P	202.0	391.5
Cl	109.4	211.8
I	trace	

* An element which seems to be Cd.

考　　察

スルメイカ内臓の無機成分の特異性を知るため，この結果を従来発表された魚類及び軟体動物における含有量と比較すると次の通りである。Cd については大谷等[20]によると，FOX 等がホタテガヒの一種の肝臓に見出していることを報告しているが，著者は痕跡的ではあるが Cd と考えられる元素の存在を知つた。Cu についてはタコ，イカの新鮮肝臓中に 190～760 mg% 存在するという HENZE[6] の報告があるが，スルメイカ内臓中では 34 mg% 存在し，一般魚肉及び軟体動物の筋肉中含量にくらべ約 7～10 倍程多い。Fe, Al はスルメイカ内臓中に各々 7 mg%，6 mg% 存在するが，これらは一般水産動物中含量と大差がない。Zn はスルメイカ内臓中に約 30 mg% 存在するが，これは貝類における含量と大差がないが，一般魚類の筋肉及内臓やイカ，タコの筋肉中含量の 2～10 mg% に比べ著しく多いと考えられる。Mn は内臓中には 11 mg% 含まれており，一般水産動物体よりやや多い。里館氏はスルメイカ肝臓中に 234 mg% と著量なる Mn の存在を見ているが，著者の取扱つた試料ではこれより遙かに少なかつた。Ca, Mg はスルメイカの内臓では乾物中各々 100 mg%，64 mg% 含まれ，他の水産動物筋肉における含量と大差がない。Na, K の含量は乾物中各々 0.24%，0.3% 強であり，一般水産動物における場合と比較し，Na はやや少く，K は大差がない。然し一般動物体に於けるのと逆に K の方が Na よりも多く存在し，柏田氏等がカツオ幽門垂における Na, K の量的関係について報告しているのと類似してる。陰イオンとしてはスルメイカ内臓中に全硫黄は新鮮物中 12.5 mg% 含まれ一般魚肉及イカ，タコ筋肉中含量の約半分である。燐は全燐として 200 mg% 存在するが，今まで報告された一般魚肉，軟体動物筋肉中含量よりやや少いが大差ないものと考えられる。Cl については今までの測定例は少く，タコ筋肉中では同乾物中 2.8%，カキ類では 0.13～1.42%，タラ肝臓では 0.2%，カツヲ幽門垂では約 0.56% と報告されているが，スルメイカ内臓では乾物中 0.21% であつた。

要　　約

1) スルメイカ内臓について無機成分の検索及び定量を行つた。

2) 陽イオンとしては Cu, Al, Fe, Zn, Mn, Ca, Mg, Na, K の 9 元素を確認し，Cd と考えられる元素の痕跡を検出した。陰イオンとしては S, P, Cl の 3 元素を確認し I の痕跡を検出した。

3) 定量分析の結果 Al, Fe, Ca, Mg, K, P の含量は一般魚類筋肉，軟体動物筋肉中における含量と大差なく，Na, Cl はやや少く，S は半分であつた。Cu はイカ，タコ類の肝臓中含量にくらべ少いが，魚肉及び軟体動物筋肉中含量の約 7～10 倍も多く含まれていた。Zn は一般魚類筋肉，軟体動物筋肉における含量

と比較し著しく多く存在していた。Mn も水産動物の含量より多く含まれているが，スルメイカ肝臓中に見出された程著量ではなかつた。

終りにこの実験に当り御指導賜つた三重県立大学立野新光教授並びに炎光分光分析を行つて下さつた近畿東海農事試験所上敷領技師に対し，深謝致す次第です。

文　　献

1) 川田・高橋： 日水会誌，**18**，536，(1953).
2) 川田・片谷・高橋・栗山： 日水会誌，**21**，503，(1955).
3) 関根・葛西： 学術協，**16**，571，(1942).
4) 堀口・柏田・柿本： 日水会誌，**18**，279，(1953).
5) 里館・竹花： 水産学雑誌，**53** 号，23，(1948).
6) HENZE： *Z. Physiol. Chem.*, **33**, (1901).
7) 林： 理化学研究所彙報 **12**，1，(1933).
8) ALBRECHT： *J. Biol. Chem.*, **57**, (1923).
9) 田村： 分析化学，**1**，117，(1952).
10) 田村・宮崎： 分析化学，**5**，566，(1956).
11) "実験化学講座"，**2**，丸善，東京，(1957)，p. 120.
12) E. B. SANDELL： "*Colorimetric Determination of Traces of Metals*", *2nd ed. Interscience Publishers, Inc., New York* (1950).
13) 植村・柴田： 化学の領域，**4**，406，(1950).
14) 原沢： 化学の領域，**5**，461，(1951).
15) E. B. SANDELL： "*Colorimetric Determination of Traces of Metals*", *2nd ed. Interscience Publishers, Inc., New York* (1950), p. 620.
16) E. B. SANDELL： *Ibid.*, p. 430.
17) 柳沢： "カルシウム及びマグネシウム新定量法と代謝"，光文堂，東京，(1955)，p. 1.
18) "標準生化学実験法"，光文堂，東京，(1953)，p. 133.
19) 木村： "無機定量分析"，共立出版，東京，(1956)，p. 316.
20) 大谷・富士川： "軟体動物の化学"，厚生閣，東京，(1934)，p. 78.

水産動物卵の生化学的研究—I.

須 山 三 千 三

(1959 年 1 月 24 日受理)

BIOCHEMICAL STUDIES ON THE EGGS OF AQUATIC ANIMALS—I.

Michizo SUYAMA*

Determinations of some biochemical components and of amino acid composition of protein in aquatic vertebrate and invertebrate eggs have been undertaken from the comparative biochemical point of view. To begin with, matured ovarian eggs of rainbow trout (*Salmo irideus*), dog-salmon (*Oncorhynchus keta*), spiny dogfish (*Squalus suckleyi*), oval squid (*Sepioteuthis lessoaiana*), sea-hare (*Dolabella auricula*), and spiny lobster (*Panulirus japonicus*) were examined. Results obtained are shown in Tables 1 and 2.

The biochemical composition of egg varies, generally, with species of animals in respect of the contents of water, protein, lipides, ashes, etc. The amino acid composition of protein, as determined by ion exchanger chromatography, is not always the same according to the source of the sample: The rainbow trout eggs and dog-salmon eggs are rich in the amounts of alanine, phenylalanine, valine, but poor in the amount of glycine, the spiny dogfish eggs are rich in arginine, proline, serine, but poor in tyrosine, the oval squid eggs are rich in aspartic acid, isoleucine, lysine, threonine, tyrosine, but poor in proline, the sea-hare eggs are rich in aspartic acid, glutamic acid, glycine, proline, but poor in histidine, and the spiny lobster eggs are rich in aspartic acid, glycine, histidine, but poor in leucine, methionine and serine.

魚類，甲殻類，軟体動物，棘皮動物等の卵巣は美味なものが多く，いくら，からすみ，うにの塩辛等は代表的な嗜好食品である。これらはそれぞれ動物の発生上必要な各種の成分を豊富に保有しているもので，鶏卵と同様に栄養学的に優れたものであると考えられる。

従来水産動物卵の生化学的，あるいは栄養学的研究は数多く行われている。水産動物卵に含まれる各種の成分のうち，蛋白質，エキス等の含窒素化合物に関する研究としては一般魚類については DEAS 等[1]，その他[2-4]により，サケ，マス類については HOLLETT 等[5]，その他[6-12]により，ウミガメについては BRAND 等[13]，その他[14]により，ウニ類については BERG[15]，その他[16-21]によつて行われており，これ以外にもいくつかの研究報告がある。しかしひとくちに水産動物卵といつても種類は極めて多く，また試料が得難い点もあつて大多数のものは生化学的性状が未知の領域にある。

近時各種の定量法が改良されて，少量の試料を以て比較的に精度良く成分の分析を実施することが可能となつたが，著者は主としてイオン交換樹脂を用いるカラム・クロマトグラフィーにより，代表的な水産動物の卵についてアミノ酸ならびに数種の含窒素化合物の研究を行い，比較生化学的，栄養学的検討を試みることを企図した。その第1報としてニジマス，サケ，アブラツノザメ，アオリイカ，タツナミガイ及びイセエビの卵の一般成分並びに卵蛋白のアミノ酸組成について報告する。

実 験

試 料 水産動物卵の成分組成は，卵の成熟度によつて異ることが予想される。その一例としてニジマス卵の成熟中における一般成分ならびに蛋白構成アミノ酸の変化に関する研究結果[11,12]を挙げることが出来

* 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish., Minato-ku, Toky, Japan).

る。従つて研究を実施するに当つて試料卵の成熟度を明確に知ることは研究結果の考察上極めて重要なことである。しかしこの点に充分な注意が払われている論文は少く，緒言に掲げた研究報告中にも成熟度の表示が無いものがかなり含まれているのは遺憾である。

比較生化学的見地からは同一成熟度をもつ試料について研究することが望まれるが，しかし各種の水産動物の卵を同一成熟度において集めることは“完熟状態”換言すれば受精可能の状態において集めること以外には全くむつかしい。

一方，卵は淡水または海水中に産み出されると卵膜が多量の水を含むようになる。ニジマス卵では“受精膜”形成に伴う吸水量は約 17% の多きに達する[10]。また後鰓類の卵のように産卵中に多量の寒天様物質に包まれるものや，甲殻類のように産卵中にキチン質様膜に包まれるものもある。従つてすでに産み出された卵を試料とする時はこれらの影響を考慮しなければならないし，発生に伴う変化[10,11]があることも考慮しなければならない。

そこで著者は産卵期の最盛期に成体を採捕し，これを解剖して卵（卵巣卵）を集めることにしたが，今回報告する各種の試料卵の成熟度或いは成体の採集状況は次の通りである。

ニジマス *Salmo irideus*: 1956 年 1 月 26 日，長野県水産指導所において採卵したもので，人工受精を施す直前のもの。

サケ *Oncorhynchus keta*: 1957 年 1 月 12～13 日，山形県滝淵川に産卵のため集まつた親魚より孵化場（吹浦）において採卵。

アブラツノザメ *Squalus suckleyi*: 1957 年 1 月 27 日，気仙沼湾で漁獲した親魚より採集。

アオリイカ *Sepioteuthis lessoaiana*: 1956 年 6 月 22 日，小湊沿岸に産卵のため集まつた成体より採卵。当時岩はだに産みつけられた卵の房をみることが出来た。

タツナミガイ *Dolabella auricula*: 1956 年 6 月 23 日，干潮時には多数の成体が交尾乃至産卵をしている時頃に成体より採卵。

イセエビ *Panulirus japonicus*: 1956 年 6 月 7 日，小湊湾において抱卵を開始した時頃に成体より採卵。

定量方法　一般成分々析法並びにアミノ酸分析法は既報[10,11]の通りである。ただしエキス窒素は三塩素醋酸による除蛋白液について測定した。

結果並びに考察

水産動物卵の一般成分　6 種の試料卵の一般成分の定量結果を第 1 表に示す。

Table 1. Biochemical analysis of the matured ovarian eggs of aquatic animals.

	Rainbow trout	Dog-salmon	Spiny dogfish	Oval squid	Sea-hare	Spiny lobster
Water %	59.04	54.45	46.80	61.78	75.11	75.00
Dry matter %	40.96	45.55	53.20	38.22	28.49	25.00
Total N mg·%	5140	4820	3950	4390	2440	2570
Protein N mg·%	4870	4450	3060	3480	1880	1670
Non-protein N mg·%	166*	296	634	846	524	898
Ether-extractives %	7.94	10.40	25.0	1.02	3.87	—
Alcohol-chloroform extractives %	12.0	15.0	29.1	4.96	4.07	4.87
Lipide N mg·%	101	74	257	62	32	—
Lipide P mg·%	157	207	300	112	33	66
Ashes %	1.61	1.72	0.78	1.54	3.03	—

* The value estimated on the 80% acetone-extractives is 54.6 mg·%[10].

これら 6 種の卵についてみると，水分は 47～75%，蛋白窒素量は 4870～1670 mg·%，エキス窒素量は 166～898 mg·%，エーテル抽出物量は 1～25%，アルコール・クロロホルム抽出物量は 4～29%，灰分は 0.8～3.0% の間に分散しており，種類の相違によつて各成分量にかなりの差がみられる。ニジマス卵及びサケ卵は少分が少く蛋白質に富み，アブラツノザメ卵は水分及び灰分が少く脂質に富み，アオリイカ卵は脂質が少くエキス窒素に富み，タツナミガイ卵は蛋白質が少く水分及び灰分に富み，またイセエビ卵は蛋白質が少く水分，エキス窒素量に富む等の特徴が見られる。

水産動物卵蛋白のアミノ酸組成　次にこれらの各試料から蛋白試料を調製し，塩酸による加水分解物についてアミノ酸組成を測定したが，その結果を第 2 表に示す。

Table 2. The amino acid composition of protein of the eggs of aquatic animal.
(Values are given as % of protein, assuming 16.0 for the percentage of N.)

Amino acid	Rainbow trout	Dog-salmon	Spiny dogfish	Oval squid	Sea-hare	Spiny lobster
Alanine	8.24	8.53	4.81	4.24	4.95	4.40
Arginine	5.68	5.58	8.41	6.01	5.84	6.91
Aspartic acid	9.15	9.34	8.75	11.10	11.10	12.10
Cystine	1.05	1.52	1.25	1.32	1.60	1.50
Glutamic acid	11.70	12.40	13.00	12.00	15.10	12.50
Glycine	2.67	2.80	3.55	3.31	4.69	5.88
Histidine	2.45	2.60	2.64	2.56	1.11	3.81
Hydroxylysine	0.48	0.22	0.54	0.70	0.45	0.12
Hydroxyproline	0.72	0.48	1.26	0	0	0.38
Isoleucine	4.89	5.03	5.16	6.03	4.75	4.25
Leucine	9.67	10.10	10.20	9.29	8.58	7.34
Lysine	7.25	7.75	6.48	9.33	7.25	5.69
Methionine	2.87	2.71	2.12	2.58	2.39	1.93
Phenylalanine	5.71	5.51	4.61	4.14	4.36	4.97
Proline	6.61	6.87	7.80	4.28	7.96	6.67
Serine	6.20	5.81	6.52	4.85	5.90	4.72
Threonine	4.89	5.03	4.79	6.40	4.76	5.92
Tryptophan	0.99	1.22	1.21	1.62	1.47	1.31
Tyrosine	4.14	4.88	2.24	5.29	4.81	4.53
Valine	6.26	6.37	4.91	5.44	5.89	5.80
Amide-N	1.91	1.29	1.14	1.78	1.47	1.39
Humin-N	—	0.158	0.102	0.133	0.146	0.102
Total	104.07	104.83	100.25	100.49	103.02	100.73
N recovd. %	97.9	97.3	96.3	97.7	96.4	97.1

この結果を通覧すると，アオリイカ，タツナミガイの卵蛋白に hydroxylysine を見出し得なかつたこと以外にも各試料卵の蛋白のアミノ酸組成にはかなり著しい相違があることがわかる。すなわち，6 試料について比較すると，ニジマス卵は alanine, phenylalanine, serine, valine 量に富むが glycine 量に乏しく，サケ卵は alanine, phenylalanine 量に富むが glycine 量に乏しく，アブラツノザメ卵は arginine, proline, serine 量に富むが tyrosine 量に乏しく，アオリイカ卵は aspartic acid, isoleucine, lysine, threonine, tyrosine 量に富むが proline 量に乏しく，タツナミガイ卵は aspartic acid, glutamic acid, glycine, proline 量に富むが histidine 量に乏しく，またイセエビ卵は aspartic acid, glycine, histidine 量に富むが leucine, methionine, serine 量に乏しい等々である。

概してニジマス卵及びサケ卵の蛋白はアミノ酸組成が類似している。然しこれらとくらべてアブラツノザメ卵は alanine, arginine, proline, tyrosine, valine 含有量においてかなり相違した蛋白をもつもののようである。またアオリイカ及びタツナミガイは類縁動物であつても卵蛋白のアミノ酸組成は glutamic acid, glycine, histidine, isoleucine, lysine, proline, serine, threonine 等の含有量においてかなり相違することがわかる。

以上のように水産動物の成熟卵の一般成分並びに卵蛋白のアミノ酸組成は，動物によつてそれぞれ異ることが明らかであるが，これらの事実は今後の研究に興味を継がせるものであつて，更に試料の種類並びに数を増して比較生化学的検討を試みたいと考えている。

本研究を行うに当り終始御懇篤なる御指導を賜わつた森　高次郎先生に深甚なる感謝の意を表する。本研究に使用したサケ卵は東京大学農学部橋本周久氏の御尽力により採集することが出来た。なお研究費の一部は昭和 32 年度文部省科学試験研究補助金によつて支弁した。ここに併記して感謝する。

文　　献

1) C. P. Deas and H. L. A. Tarr: *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **7**, 513 (1949).
2) J. Holtfreter, T. R. Koszalka and L. L. Miller: *Exptl. Cell Res.*, **1**, 453 (1950).
3) S. Saul Sas: *Tesis quím., Univ. Chille*, **2**, 33 (1950); *Chem. Abstr.*, **47**, 7120.
4) 須山三千三・宇野　寛: 本誌, **23**, 438 (1957).
5) A. Hollett and F. R. Hayes: *Can. J. Res.*, **24** D, 39 (1946).
6) F. R. Hayes: *Quart. Rev. Biology*, **24**, 281 (1949).
7) E. G. Young and D. G. Smith: *J. Biol. Chem.*, **219**, 161 (1956).
8) C. Rizzoli: *Boll. soc. ital. biol. sper.*, **33**, 223 (1957).
9) 荻野珍吉・須山三千三: 本誌, **23**, 227 (1957).
10) 須山三千三・荻野珍吉: 本誌, **23**, 785 (1957).
11) 須山三千三: **23**, 789 (1958); **24**, 656 (1958).
12) 須山三千三・金子光徳・小俣秀夫: 本誌, **24**, 660 (1958).
13) T. V. Brand and W. G. Lynn: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **64**, 61 (1947).
14) 富永直友: 科学, **25**, 140 (1955).
15) Wm. E. Berg: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **75**, 30 (1950).
16) S. Lindvall and A. Carsjö: *Arkiv Kemi*, **2**, 293 (1950).
17) T. Gustafson and M–B. Hjelte: *ibid.*, **2**, 363 (1950).
18) T. Hultin: *Exptl. Cell Res.*, **1**, 599 (1950); **3**, 494 (1952).
19) A. Bolognari: *Arch. sci. biol. (Italy)*, **36**, 40 (1952).
20) T. J. Mende and E. L. Chambers: *Arch. Biochem. Biophys.*, **45**, 105 (1953).
21) J. L. Kavanau: *Exptl. Cell Res.*, **6**, 563 (1954).

天然ビタミン油よりビタミンA濃縮物を経済的に製造する方法の研究—VIII.

Chromatographyによる A 濃縮物の吟味

新間弥一郎・田中 稔

(1959年2月27日受理)

STUDIES ON THE ECONOMICAL MANUFACTURE OF VITAMIN A CONCENTRATE FROM FISH LIVER OIL—VIII. CHROMATOGRAPHICAL SEPARATION OF VITAMIN CONCENTRATES.

Yaichiro Shimma and Minoru Tanaka*

Of a series of our works, this report is concerened to the chromatographical analysis of vitamin concentrate. The purpose of the chromatography is to clarify the nature of the concentrate and obtain the data necessary for the further concentration. The followings are the outlines of our experiment.

I) Vitamin concentrates obtained by the saponification method were divided into three fractions by the use of chromatographical technique. The qualities and the contents of non-vitamin substances in the fractions were examined (Tables 1, 2, 5 and Figs. 2, 4, 5).

The chromatographic column used, is shown in Fig. 1. As adsorbents, Merk's alumina weakened by 3.3% methanol is used. Dissolve 0.3gr. of unsaponifiable matter in light petroleum to pass through the column and then elute by different solvents into the following three fractions.

Fraction I is developed with light petroleum to make the total volume of solvent 50 m*l*. It contains anhydrovitamin A and other hydrocarbons.

Fraction II is developed with benzene containing 5% methanol, to make the total volume of solvent 50 m*l*, and contains vitamins, sterols, and other mono-, and dihydric-alcohols.

Fraction III is the residue remaining in the column.

II) Maleic anhydride reacts rapidly on conjugated double bonds in vitamin A and other compounds in unsaponifiable matter. Samples of concentrates were treated with maleic anhydride in benzene for six hours on boiling water bath. After saponified, unsaponifiable matter was extrated with ether. The extracts having no conjugated double bonds, were also divided into three fractions by the chromatographical method mentioned above (Tables 3 and 6).

After comparing the result with that of original concentrates (Tables 1 and 5), the weight percent diagrams of vitamin concentrates were obtained (Fig. 6).

III) The same chromatographical analysis was applied to each molecular distillate of vitamin concentrate (Tables 4, 5, 6, and Fig. 3). From the result, it was ascertained that molecular distillation was very useful to refine the concentrate and to remove non vitamin materials, having conjugated double bonds. But the method is not applicable to removing compounds with no conjugated double bonds, for the distillate contains the compounds as much as original concentrate (Figs. 6 and 7).

緒 言

天然ビタミン油を鹸化し，溶剤を以て不鹸化物を抽出後，脱ステロール，その他の処理を行えば100万～

* 東海区水産研究所 (Tokai Regional Fisheries Research Laboratory, Chuo-ku, Tokyo, Japan).
東海区水産研究所業績 B 第310号.

200 万単位程度のA濃縮物を経済的に製造し得るが，原料ビタミン油の種類によつては濃縮物のA単位が低くA以外の不純物を多量に含む場合がある。このような濃縮物を更に精製して一層純度の高いものとするには，A濃縮物中に存在する不純物の性質を明にする必要がある。

このために著者らはA濃縮物をアルミナによるカラム・クロマトグラフィ（以下クロマトと記す）により検討することにした。不鹸化物のクロマトについては既に報告されているが[1)2)]，著者らはAの経済的濃縮方法を検討する見地からA濃縮物を次の3区分に大別しその割合を求めた。

Ⅰ．Aより吸着され難い区分（以下単にⅠ区分と記す）
Ⅱ．Aを含む区分　　　　　（　〃　Ⅱ　〃　）
Ⅲ．Aより吸着され易い区分（　〃　Ⅲ　〃　）

またA濃縮物およびその3区分についてそれぞれ質的検討を行い，その結果A濃縮物から不純物を除去する方法について参考となし得る資料が得られたのでここに報告する。

実　験　の　部

I)　クロマトによる A 濃縮物の区分

（1）　実験方法

吸着剤　Merck 製クロマト用アルミナ 100g を磁性のシャーレにとり直火で 30 分間加熱する。放冷後試薬瓶に移し純メタノール 3.3cc を加え振盪し，充分混和した後密栓保存し使用する。

溶　剤　石油エーテル　（日本石油製）石油エーテルを蒸溜し 60°C 以下の溜分をとり使用する。（以下単に P. E. と記す。）

メタノール・ベンゾール混液　精製脱水せるベンゾール 100cc に純メタノール 5cc を加え混和し使用する。（以下 Bz-M と記す。）

クロマト操作　予めクロマト管（Fig. 1）にアルミナを充塡しておき，これに試料約 0.3g（精秤）を 1～2cc の P. E. に溶解し洗い込む。P. E. 溶液がアルミナ層の表面に約 2mm の液量となれば繰返し P. E. をクロマト管にそそぎ込み，滴下する P. E. 溶液が 50cc となればこれを第Ⅰ区分とする。この際試料添加後 8～10 分で黄色乃至橙赤色に着色せる P. E. 溶液が滴下し始め，15～20 分で再び無色となる。次に Bz-M をクロマト管にそそぎ同様にして滴下液 50cc をとりこれを第Ⅱ区分とする。

滴下する各区分は直接メスコルベンに受けて 50cc となし，その 1cc をとり減圧で溶剤を溜去した後イソプロパノールで稀釈し光度計で所要波長の吸光度を測定する。1cc をとつた残りの各区分はそれぞれ溶剤を溜去後秤量し，得られた値に 50/49 を掛けて各区分重量を求める。試料重量よりⅠ及びⅡ区分の重量を差引いたものをⅢ区分の重量とする。

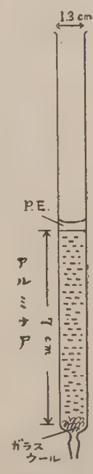


Fig. 1.

（2）　試　料

○試料 a.　鯨肝油より得られたA濃縮物（106 万単位）*

○試料 b.　アブラザメ，スケソウ及び鯨の混合肝油より得られたA濃縮物（74.2 万単位）

以上の外，鯨，アブラガレイ，ヨシキリザメ，スケソウ及び魚種不明の肝油から得られたA濃縮物など 8 種についてはそれぞれ試料名と単位を Table 2 に記した。

（3）　実験結果

試料 a 及び b のクロマト結果を Table 1 に，また試料 a のクロマト各区分の吸収曲線を Fig. 2 に示した。これらの結果に見るごとく試料中のAはⅡ区分中に含まれている。またⅠ区分も相当高い吸収を示して

* 本実験における A 単位はすべて $E^{1\%}_{1cm}$ 328 mμ（エステルの場合）或は $E^{1\%}_{1cm}$ 325 mμ（不鹸化物の場合）に 1,900 を掛けたもので補正していない。なお試料 a 及び b の Oser f はそれぞれ 0.810 及び 0.628 である。

Table 1. クロマト結果（試料 a 及び b）
Chromatographic fractionation of samples a and b.

試料 Sample	重量 Weight		吸光比 E Value ratio		Vitamin A			屈折率 Ref. index
	g	%	300mμ/325mμ	350mμ/325mμ	I. U.	I. U.× Wt.%	%	n_D^{40}
					×10⁴	×10⁶		
a	0.3109	100	0.691	0.530	106	106	100	1.5332
I	0.0819	26.3	1.099	0.860	(36.5)	(9.6)	(9.05)	1.5151
II	0.1404	45.2	0.654	0.481	196	88.5	83.5	1.5698
III	0.0606	28.5	—	—	—	—	—	—
b	0.3164	100	0.802	0.572	74.2	74.2	100	1.5360
I	0.0951	30.0	0.833	0.860	(49.9)	(14.95)	(20.15)	1.5366
II	0.1652	52.2	0.797	0.497	106.8	55.7	75.2	1.5500
III	0.0561	17.8	—	—	—	—	—	—

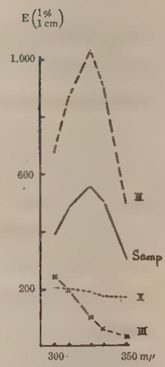


Fig. 2. クロマト区分の吸収曲線（試料 a）
Absorption curves of chromatographic fractions I, II, III, and original sample a.

いるが，これはAによる吸収ではなく，Aの分解物によるものと考えられる**。すなわち，Oser *f* の著るしく低い試料bにおいてはI区分の吸収が多く，II区分中のAによる吸収は試料の見掛けの吸収の 75.2% にすぎない。

さらに数種のA濃縮物について同様実験した結果を Table 2 に示した。

Table 2. 各種A濃縮物のクロマト結果
Chromatographic fractionation of some vitamin concentrates.

試料 Samples			クロマト区分重量 Chromatographic fractions (Wt. %)			
魚種 Kind of fish		V. A. I. U.	I	II	II′*	III
		×10⁴				
抹香鯨	Sperm whale	222	11.6	82.8	(18.6)	5.6
		177	20.2	72.7	(23.2)	7.1
アブラガレイ	Flat fish	187	25.8	67.5	(14.0)	6.7
ヨシキリザメ	Great blue shark	157	33.4	58.7	(17.2)	7.9
スケソウ	Pollack	155	27.5	61.6	(20.0)	10.9
〃		104	39.7	49.9	(20.1)	10.4
不明	Unknown	48.3	45.0	32.8	(22.3)	22.2

* II区分中の A 以外の不純物
Non-vitamin materials in fraction II.

II. A 濃縮物中の非軛化合物の検討

中宮[3]はA濃縮物に無水マレイン酸を反応せしめた後，無水マレイン酸と縮合しない非縮合部を抽出したことを報告している。これはA濃縮物中の不純物で共軛二重結合を有しない化合物（以下単に非共軛化合物と記す）である。A濃縮物中の非共軛化合物含量，ならびに性質を知ることとはA濃縮物を更に濃縮する上に重要な手がかりとなると思われるので次の実験を行つた。

試料 5g をとり同量の無水マレイン酸及び精製脱水せるベンゾール 20cc を添加し沸騰浴上に6時間反応せしめる。後ベンゾールを可及的に溜去し局方アルコール 20cc を加え，攪拌しつつ徐々に苛性ソーダ溶液（NaOH 6g + 水 9cc）を添加する。

** I区分中に含まれる高い吸収を有す不純物については別に報告する。

加温鹸化終了後エーテルを以て不鹸化物を抽出すれば非共軛化合物を得る。

試料 a 及び b から得られた非共軛化合物の収量はそれぞれ 41.7% 及び 49.7% であつた。試料はいずれも不鹸化物抽出後脱ステロール操作を行つたものであるが，試料 b の非共軛化合物中にはなお相当量のステロールが存在していた。このステロールを除去すれば収量 44.5% となつた。

これら非共軛化合物を上記クロマト法により 3 区分に分けた結果を Table 3 に示した。

Table 3. 非共軛化合物のクロマト結果（試料 a 及び b）
Chromatographic fractionation of non-conjugated compounds in samples a and b.

収量 Yield	Samp. a 41.7%			Samp. b 脱ステロール後 Sterol free 44.5%		
	重量 Weight		屈折率 R.I.	重量 Weight		屈折率 R.I.
	g	%	n_D^{40}	g	%	n_D^{40}
非共軛化合物 Non-conjugated compound	0.2512	(100)	1.4880	0.2756	(100)	1.4920
I	1.1019	40.6	1.4960	0.0879	31.9	1.5010
II	0.0753	30.0	1.4767	0.1402	50.8	1.4868
III	0.0740	29.4	—	0.0475	17.3	—

III. A 濃縮物アセテートの分子蒸溜による濃縮効果の検討

A 濃縮物を分子蒸溜して一層高単位の濃縮物を得た報告はあるが[4),5)]，いずれも溜分中の A 以外の不純物について質的検討を欠いているようである。そこで著者等は蒸溜々分について上記 I 及び II の方法を適用し，蒸溜によりどのような不純物が除去されるかを検討するため次の実験を行つた。

1) 分子蒸溜溜分のクロマト区分

試料 b のアセテート 21g にサラダ油 40g を加え分子蒸溜を行つた結果を Table 4 に示し，各溜分の吸光値の割合 ($E^{1\%}_{1cm}$ × Wt. %) を Fig. 3 に示した。

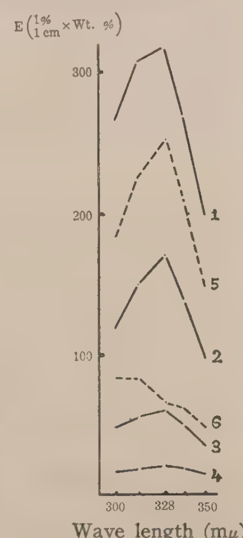


Fig. 3. 分子蒸溜溜分の吸収曲線 ($E^{1\%}_{1cm}$ × Wt. %)
Total absorption curves of molecular distillates.
1. 試料 b アセテート Sample b acetate
2. 溜分 Fr. 2+3
3. 溜分 Fr. 4
4. 溜分 Fr. 1
5. 溜分合計 Total distillates (2+3+4).
6. (1−5)

Table 4. 分子蒸溜結果（試料 b アセテート）
Molecular distillation of vitamin concentrate (sample b acetate).

	温度 Temperature	重量 Weight			Vitamin A			
					単位 I.U.	収量 Recovery		濃縮率 Rate of concent.
	°C	g	%	Total %	$\times 10^4$	%	Total %	
Orig. acetate	—	21	—	—	60.5	—	—	—
Fr. 1	75	1.5	7.15	—	56.8	6.72	—	0.940
2	100	4.4	21.0	28.2	82.7	28.70	35.4	1.368
3	120	4.1	19.5	47.7	77.7	25.04	60.4	1.285
4	145	5.4	25.7	73.4	44.8	19.0	79.4	0.740
残渣 Residue	—	—	—	—	(3.7)	(12.6)	92.0	

各溜分を鹸化しそれぞれエーテルで不鹸化物を抽出した後，上記クロマト区分を行つた結果を Table 5 に示した。

Table 5. 分子蒸溜溜分のクロマト結果
Chromatographic fractionation of molecular distillates (sample b).

Fr.		蒸溜溜分の鹼化抽出物 Extract of mol. dist.		クロマト区分 Chromatographic fractions		
			脱ステロール後 Sterol free	I	II	III
1	重 量 Weight %	80.1	—	48.3	34.8	16.9
	A単位 I. U. ×10⁴	69.5	—	(40.4)	125	—
	屈折率 R. I. n_D^{40}	1.5232	—	1.5210	1.5412	—
2+3	重 量 Weight %	82.4	—	26.7	47.4	25.9
	A単位 I. U. ×10⁴	96.4	—	(59.8)	158	—
	屈折率 R. I. n_D^{40}	1.5345	—	1.5317	1.5625	—
4	重 量 Weight %	87.5	73.8	37.8	55.0	6.7
	A単位 I. U. ×10⁴	—	59.7	(56.5)	62.5	—
	屈折率 R. I. n_D^{40}	—	1.5222	1.5398	1.5189	—

2) 非共軛化合物のクロマト区分

Aが濃縮されている Fr. 2 及び 3 を合しその非共軛化合物をクロマトにかけ Table 6 のごとき結果が得られた。

試料b及び Fr. 2+3 のそれぞれの非共軛化合物の性質を比較するために両者の紫外及び赤外部における吸収を測定した (Fig. 4 及び 5)。すなわち，紫外部吸収には若干の差が

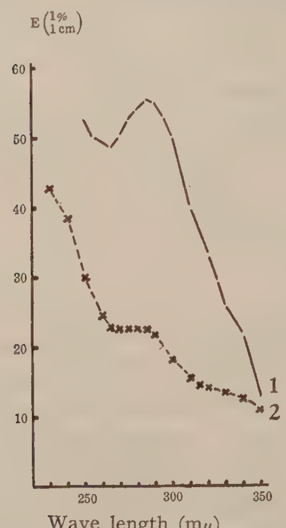


Fig. 4. 非共軛化合物の紫外部吸収曲線
1. 試料b 2. 試料bの分子蒸溜溜分 (Fr. 2+3)
Spectrophotometric curves of sample b, treated with maleic anhydride (1), and molecular distillates (Fr. 2+3) treated with maleic anhydride (2).

Table 6. 非共軛化合物のクロマト結果 (Fr. 2+3)
Chromatographic fractionation of non-conjugated compound in molecular distillates (Fr. 2+3).

	重 量 Weight			屈折率 R. I. n_D^{40}
	g	%	Fr. 2+3 に対する% % for orig.	
非共軛化合物 Non-conjugated compound	0.3106	(100)	49.8	1.4778
I	0.0986	31.8	15.8	1.4868
II	0.1638	52.7	26.3	1.4680
III	0.0482	15.5	7.7	—

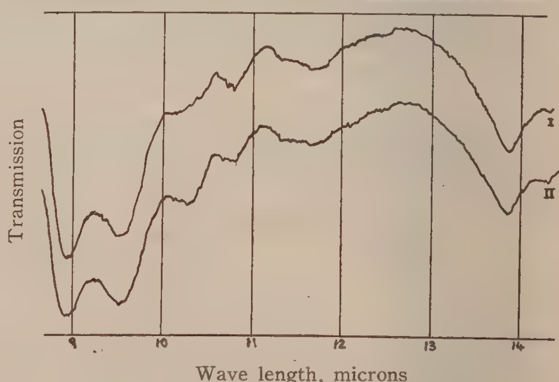


Fig. 5. 非共軛化合物の赤外部吸収曲線
I. 試料b II. 試料bの分子蒸溜溜分 (Fr. 2+3)
Infrared transmission curves of sample b, treated with maleic anhydride, (I), and molecular distillates (Fr. 2+3) treated with maleic anhydride, (II). The percentage transmission is not given as the ordinate because this axis was shifted to permit comparison of the curves. These were, however, protted from percentage transmission data.

現れるが赤外部吸収は極めて良く一致して殆んど差を認めなかつた。

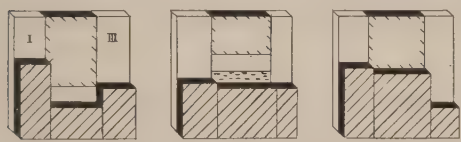
考　　察

1)　クロマト各区分に属する不純物について

上記の実験結果からA濃縮物中の不純物の割合は鯨肝油以外は，Ⅲ区分＜Ⅱ′区分*＜Ⅰ区分の順である。

Ⅰ 区分　Ⅰ区分は主に炭化水素より成り，濃縮物に対し 11〜45% の割合で存在しA濃度の低いもの程その割合は大となる。Ⅰ区分中の炭化水素は原料肝油中に存在したもの以外にその後の処理によつて2次的に生成したものもある。例えばAの分解によつて生じたアンヒドロAなどもこのⅠ区分に含まれる。

スクアレンやプリスタンの如き肝油中に広く存在する炭化水素は 300〜350 mμ において著しく低い吸光値を示す。例えばスクアレンの $E^{1\%}_{1cm}$ 325 mμ は約1である[6]。しかるに試料aおよびbのⅠ区分はいづれも200前後のE価を有しスクアレンなどと比較して非常に高い。これはAなどから2次的に生成した炭化水素によるものと思われる。



Sample a.　　Sample b.　　Fr. 2+3

Fig. 6.　A濃縮物の重量組成図
Weight percent diagrames of vitamin concentrates.

- [diagonal hatching] Non-conjugated compounds, treated with maleic anhydride.
- [open box] Conjugated non-vitamin compounds.
- [dense hatching] Vitamin A
- [dashed fill] Sterol

Ⅱ′ 区分　Ⅱ′区分はA濃縮物に対し 14〜23 % の割合で存在するが，その割合とA濃度との間には一定の関係を認め難い。Table 1, 3, 5 及び 6 からA濃縮物の重量組成を模型的に図示すれば Fig. 6 となる。この図からも明かなように Ⅱ′ 区分に含まれるステロールは分子蒸溜によりA主溜分から殆んど除くことができる。Ⅱ′ 区分の大半を占める非共軛化合物はその赤外部吸収の曲線がバチルアルコールの吸収曲線に類似していることからグリセリールエーテルであろうと思われる。

2)　A 濃縮物アセテートの分子蒸溜について

Table 1, 5 から試料bと分子蒸溜々分とのクロマト各区分の割合を比較すれば，Fr. 1 及び 4 においてⅠ区分が多い。肝油中の炭化水素は比較的低温において溜出することが知られているから[8]，Fr. 1 のⅠ区分は原料肝油中に存在した炭化水素と考えられる。これに反し Fr. 4 のⅠ区分は屈折率および吸光値が高く，また蒸溜温度も高いことから A あるいはその関連物質の分解などにより 2 次的に生成した炭化水素と思われる。

A濃縮物を分子蒸溜してもA濃度がそれ程上昇しないのは試料中の非共軛化合物がAと共に溜出するためである。非共軛化合物は不純物中の大半を占めており，これを除去することは極めて有効な濃縮方法であるが，分子蒸溜によつてはその目的を達することが出来なかつた。

Table 4 および Fig. 3 に見るように分子蒸溜により一般吸収を有する不純物がよく除去され，Oser 補正値は著るしく良くなる。すなわち試料bの Oser f は 0.628 であるが Fr. 2+3 の f は 0.812 で遙かに高い。また溜分の色や臭味も著るしく改善される。これらの点から濃縮物アセテートを分子蒸溜することは一つの有効な精製方法と考えられる。

3)　屈折率について

東[7]はビタミン油はAの屈折率が高いために一般に高い屈折率を示し，A単位が高くなるに従い屈折率も高くなることを報告している。A濃縮物においても全く同様であり上記のクロマト区分においてもAを含むⅡ区分が最も高い屈折率を示している。

しかるに濃縮物アセテートを分子蒸溜すれば溜分のA単位は高くなるが屈折率は逆に低下する。これは分子蒸溜によつて屈折率の高い不純物が除去されるためである。

---

* Ⅱ区分重量よりA重量を引いた重量。即ちⅡ区分中のA以外の不純物（表2参照）

非共軛化合物においてはⅠ区分の屈折率が最も高く，試料bでは n_D^{40} 1.5010 であつた。この値は鎖状炭化水素の中で屈折率の高いスクアレンの屈折率 (1.4890)[6] より更に高いもので，環状の炭化水素の存在が考えられる。

中宮[8] はイシナギおよびスケソウのA濃縮物の無水マレイン酸非作用部から屈折率 1.5 以上の不飽和炭化水素を分離し Gadusene と命名している。中宮および著者等の分離した屈折率の高い炭化水素はA濃縮物に広く存在するらしいが，これらの炭化水素の構造についてはなお，確認されていない。

また試料bの分子蒸溜々分により得られた非共軛化合物の屈折率は試料bのそれよりもやや低く，Ⅰ区分の屈折率は 1.4868 である。従つて非共軛化合物中の屈折率高き炭化水素も分子蒸溜によつて除かれることが明かとなつた。

摘　　要

A濃縮物を更に精製する方法を検討するため，濃縮物のアルミナによるクロマト区分及び無水マレイン酸附加物の除去などを行い次のことを明かにした。

1)　A濃縮物をクロマトにより3区分に分離し，各区分の不純物の割合を求めた結果，不純物はⅠ区分＞Ⅱ′区分＞Ⅲ区分の順に存在する。

2)　A濃縮物中の不純物の過半は非共軛化合物であり，その赤外部吸収より，グリセリール・エーテルの存在を推定した。

3)　A濃縮物およびその非共軛化合物をクロマト区分して，その屈折率を測定した結果，濃縮物においてはⅡ区分が，非共軛化合物においてはⅠ区分が最も高い屈折率を示した。また分子蒸溜によつて得られた溜分の屈折率はもとの試料の屈折率よりも低い。

4)　濃縮物アセテートの分子蒸溜は Oser f の向上および色，臭味の軽減などA濃縮物の精製に有効な操作である。

本研究に当り終始御懇篤なる御指導を賜つた東秀雄博士ならびに御助言を頂いた衣巻豊輔技官に謹んで感謝の意を表する。

文　　献

1) N. I. GRIDGEMAN, G. P. GIBSON and J. P. SAVAGE: *Analyst* **73**, No. 873, 662 (1948).
2) 東秀雄・金子徳五郎・杉井麟三郎: 本誌, **18**, No. 9, 397 (1953).
3) 中宮次郎: 理研報, **13**, No. 1, 56 (1934).
4) J. G. BAXTER and C. D. ROBESON: ***J. A. C. S.*** **64**, 2,415 (1942).
5) 阿河利男・辻本純三・小森三郎: 工化, **59**, No. 4, 460 (1956).
6) 東秀雄・金子徳五郎・杉井麟三郎: 本誌, **21**, No. 6, 448 (1955).
7) 東　秀雄: 農化, **17**, 813 (1941).
8) 中宮次郎: 理研報, **14**, No. 11, 720 (1935).

天然ビタミン油よりビタミンA濃縮物を経済的に製造する方法の研究—IX.

メタノールを使用してA濃縮物を精製する方法

東 秀雄・山川健重・金子徳五郎・杉井麒三郎

(1959 年 2 月 27 日受理)

STUDIES ON THE ECONOMICAL MANUFACTURE OF VITAMIN A CONCENTRATE FROM FISH LIVER OIL—IX. PURIFICATION OF VITAMIN A CONCENTRATE WITH METHANOL.

Hideo HIGASHI*, Takeshige YAMAKAWA*, Tokugorô KANEKO* and Kisaburô SUGII*

In succession to the previous experiments on this subject, technological improvement has been saught to concentrate vitamin A to a higher level and free from odor. In the present work a method for treating vitamin A concentrate with aqueous methanol under specific conditions has been successful in eliminating fishy smell as well as hydrocarbon from the previous product. The color of the refined substance was found improved to some extent.

Therefore, the method may be recommended as an approach to industrially refining vitamin A concentrate at a reduced cost. The following are the procedures of and the results from the experiments.

1) Different amounts and strengths of methanol were added to each sample of vitamin A concentrate shown in Table 1. The mixture was boiled until the solution was formed. After cooling over night, separated methnol soluble fraction was decanted and evaporated. Vitamin A was concentrated in this fraction, while vitamin D in another insoluble with methanol (Tables 2, 4 and 8).

2) Of the various procedures compared as to the refining efficiency, the most effective was found to be a twice-repeating treatment (**a** method) with 90% methanol 20 times as much as the vitamin A sample—the second treatment extracting the vitamin A from the residue of the first—(Table 3).

3) In determining the effect of the vitamin A material from different species of fish, **a** method was compared with **b** in which petroleum ether solution was extracted with methanol. Although the results were somewhat variable depending on the samples, the recovery of the vitamin A concentrate was greater in **a** method than in **b**, while the rate of concentration was *vice versa* (Table 5).

4) The methanol soluble fraction obtained by both methods was subjected to chromatographic determination with a view to separating the material into three fractions as it was chromatographed in the alumina column. Upon measuring the weights and vitamin A levels of the eluted fractions it was revealed that the components of impurities to be eliminated were variable even in the same procedure likely depending on species of fish used for the vitamin A sample (Tables 6, 7 and Fig. 1).

5) Vitamin D was separated at a high level in the methanol insoluble fraction (Table 8). It is suggested, therefore, that the method with some improvement may be adopted for separating the liveroil of some species into vitamin A and vitamin D.

---

* 東海区水産研究所 (Tokai Reg. Fish. Res. Lab. Chūō-ku, Tokyo, Japan).
東海区水産研究所業績 B 第 311 号.

緒　　言

ビタミン油からA濃縮物を製造するために不鹼化物を有機溶剤で処理してAを濃縮する試みは古くから行われている[1),2)]。これらの濃縮法はA濃縮物を工業的に精製する方法として採用し得るか否かは明らかにされていない。本研究で既に述べた濃縮法[3),4)]のみでは原料によつては希望するA濃度に達せず，しかも製品の香味もよくない場合もあるので，これらの濃縮法によつて得られたA濃縮物を更に精製する必要を感じた。既報の濃縮法で得られたA濃縮物にはなお相当多量の炭化水素，アルコール類，分解物等の不純物が含まれる。これらの不純物をA濃縮物より分離する手段としてA濃縮物を有機溶剤で処理する濃縮法（精製法）について吟味することにした。本報ではA濃縮物を含水メタノールで処理する方法について吟味した結果を報告する。

実 験 の 部

I. 試　料

スケソウを原料とした第1次濃縮物*およびスケソウ，ヨシキリザメ，カツオを原料とした第2次濃縮物**を試料とした。これらのA単位は Table 1 に示す。

II. 実験方法

試料 5～10g を精秤し，これに種々の量，濃度のメタノールを加えて加温溶解せしめ，一夜冷蔵庫中に冷却し，上澄液を傾瀉してとり，その溶剤を溜去後メタノール可溶物の重量ならびにA（試料によつては A および D[5)]）を測定した。また，メタノール不溶部についても重量，吸光度を測定した。使用するメタノールは純メタノールに水を加えて諸種の濃度に調製した。

Table 1.　試　料
Sample used in the experiment.

試料番号 Sample No.	ビタミン単位 Vitamin potency A	D	備考 Remarks
	×10⁴ I. U.		
1	35.2		スケソウ肝油第1次濃縮物 Concentrated from pollack liveroil by the first treatment.*
2	110.0		スケソウ肝油第2次濃縮物 Concentrated from pollack liveroil by the second treatment.**
3	96.0		カツオ肝油第2次濃縮物 Concentrated from skipjack liveroil by the second treatment.
4	134.0		マグロ肝油第1次濃縮物 Concentrated from tuna liveroil by the first treatment.
5	77.9		ヨシキリザメ肝油第2次濃縮物 Concentrated from great blue shark liveroil by the second treatment.
6	105.0		スケソウ肝油第2次濃縮物 Concentrated from pollack liveroil by the second treatment.
7	80.5	264.8	カツオ肝油第2次濃縮物 Concentrated from skipjack liveroil by the second treatment.

* First treatment comprises extraction after saponification and precipitation with cooled methanol.
** Second treatment comprises the first treatment mentioned above and the removal of impurities by the urea complex formation.

III. 実験結果および考察

試料を適当濃度のメタノールに溶解せしめ，冷却すればA以外の不純物は主としてメタノール不溶部に来り，メタノール可溶部は試料よりもA濃度が高くなる。このさい，使用するメタノール濃度および量あるいは試料によつてAの濃縮効果は当然異ることが予想されるので使用すべきメタノールの濃度，量および試料による差異などを吟味することにした。

（1） メタノール濃度に関する吟味

試料 (1) を 10 倍量の 85～95% メタノールに溶解させ上述の実験方法に従つてメタノール可溶部と不溶

* 鹼化法で得た不鹼化物を脱ステロールしたもの。
** 第1次濃縮物を更に尿素処理したもの。

部に分ち，両者の重量およびAを測定し，Table 2 のごとき結果が得られた。Table 2 に見るごとく，メタノール濃度が低くなるに従つて，メタノール可溶部のA濃度は高くなるが，A収量は低下する傾向がある。この結果より溶剤を試料に対し10倍量使用せる場合はメタノール濃度は 87.5, 90% が適当と思われた。試料 (1) を 87.5, 90 %メタノール反復抽出し，その抽出部のA濃度およびA収量を測定し Table 3 のごとき結果が得られた。

Table 3 に見るごとく，メタノール可溶部のA濃度は 87.5% メタノールを使用した場合が，A収量は 90% メタノールを使用した場合がそれぞれよい結果を示している。

Table 2. メタノールの濃度を変えた場合
Extracting with various strength of methanol.
試料 1
Sample No. 1

メタノール濃度 Strength of methanol	部分 Fraction	重量 Weight (%)	A単位 Vitamin A potency	濃縮率 Rate of concentration	A収量 Yield of vitamin A (%)
95%	可溶部 Soluble fraction	74.5	×10⁴ I.U. 39.8	1.13	84.2
	不溶部 Insoluble fraction				—
92.5%	可溶部 Soluble fraction	37.8	51.4	1.46	55.1
	不溶部 Insoluble fraction	62.6	24.3	0.69	43.4
90%	可溶部 Soluble fraction	26.3	57.5	1.63	42.9
	不溶部 Insoluble fraction				—
87.5%	可溶部 Soluble fraction	16.6	65.9	1.87	31.0
	不溶部 Insoluble fraction	85.8	28.5	0.81	69.7
85%	可溶部 Soluble fraction	12.1	64.8	1.84	22.3
	不溶部 Insoluble fraction				

Table 3. メタノールで濃縮物を反復抽出した場合
Extracting A concentrates with methanol repeatedly.
試料 2
Sample No. 2

メタノール濃度 Methanol strength	90%							
	可溶部 Soluble fraction				不溶部 Insoluble fraction			
抽出回数 No. of times of extracting	重量 Weight (%)	A単位 Vitamin A potency	A濃縮率 Rate of concentration	A収量 Yield of vitamin A (%)	重量 Weight (%)	A単位 Vitamin A potency	A濃縮率 Rate of concentration	A収量 Yield of vitamin A (%)
1	77.9	×10⁴ I.U. 121.0	1.10	85.5	21.7	×10⁴ I.U. 62.7	0.57	12.5
2	3.1 (81.0)	145.2 (122.1)	1.32 (1.11)	4.1 (89.6)	17.5	48.4	0.44	7.7

メタノール濃度 Methanol strength	87.5%							
	可溶部 Soluble fraction				不溶部 Insoluble fraction			
抽出回数 No. of times of extracting	重量 Weight (%)	A単位 Vitamin A potency	A濃縮率 Rate of concentration	A収量 Yield of vitamin A (%)	重量 Weight (%)	A単位 Vitamin A potency	A濃縮率 Rate of concentration	A収量 Yield of vitamin A (%)
1	48.2	×10⁴ I.U. 144.0	1.31	63.1	52.4	×10⁴ I.U. 69.3	0.63	33.2
2	7.8 (56.0)	157.1 (146.2)	1.43 (1.33)	11.1 (74.2)	43.7	53.8	0.49	21.2
3	4.5 (60.5)	132.0 (145.0)	1.20 (1.32)	5.4 (79.6)	38.7	50.6	0.46	17.8

( ) 内は累計を示す。
The values enclosed in parentheses show the sum of pertinent items.

（2） メタノール使用量の吟味

試料 (2) を 10〜50 倍量の 90% メタノールに溶解し上述の実験方法に従つてメタノール可溶部と不溶部に分ち，両者の重量およびA濃度を測定した結果を Table 4 に示す。可溶部のA収量はメタノールを多量に使用した場合が当然多くなるが，メタノール使用量を余り多くすれば不純物の溶解量も多くなつて可溶部のA濃縮率は下つてくる。この表によるとメタノール使用量が 20 倍程度が効果的に見えるが，原料の種類によつては多少増減した方が効果的な場合もあろう。

Table 4. メタノール可溶部における重量および A 単位
Weight and vitamin A potency of methanol soluble fraction extracted with various volumes of methanol.
試料 2
Sample No. 2

メタノール量(倍) Volume of methanol (Times of sample)	重量 Weight (%)	A 単位 Vitamin A potency ($\times 10^4$ I. U.)	A 濃縮率 Rate of concentration	A 収量 Yield of vitamin A (%)
10	39.8	130.0	1.18	47.0
15	49.1	131.0	1.19	58.5
20	55.3	134.0	1.22	67.4
30	59.2	131.4	1.19	71.2
50	71.7	124.0	1.13	81.5

（3） 原料の差による精製効果の差異

原料によつて使用すべきメタノールの濃度および量の適量は違うだろうが，上の実験では 20 倍量の 90% メタノールにより2回くり返し抽出を行つた場合が好結果であるように思えたので試料 (3), (4), (5), (6) について 20 倍の 90% メタノールで2回処理して原料の差による精製効果の差異を検してみた。このさい参考のために上述のメタノール処理による精製法（以下 a 法と仮称する）と同時に石油エーテルおよびメタノールを使用する精製法*（以下 b 法と仮称する）による精製を行い，それらの精製効果を比較した。これらの結果をとりまとめ Table 5 に示す。Table 5 に見るごとく，試料により精製効果は多少の差があるが，可溶部のA収量の大きい点で a 法がまさり，可溶部のA濃度を高める点では b 法がまさつている。a 法により得られた可溶部および b 法により得られたメタノール可溶部につき，前報[6] のアルミナクロマトを行い，各々3区に分ち，それらの区分の重量およびA濃度を測定した。これらの結果を Table 6 および Table 7 に示す。これらの表に見るごとく，原料の種類，精製法によつて精製効果が異ることが分る。すなわち，a 法により I 区分をよく除去出来る試料はヨシキリザメ，カツオ，マグロで，III区分をよく除去出来る試料はマグロである。また，b 法により I 区分をよく除去出来る試料はマグロ，スケソウ，ヨシキリザメ，カツオで，III区分をよく除去できる試料はマグロ，スケソウである。

このように，同じ精製法によつても除かれる不純物の性質が異るが，これら不純物の性質の一部を明らかならしめるため，クロマト区分の重量比を面積で示したのが Fig. 1 である。クロマト区分の I 区分は OH を有しない化合物で，III区分は OH 2ケを有するもの，あるいは分解物などであろう。

上述のメタノールを使用してA濃縮物を精製する方法によれば魚種によりA濃度が4割も濃い濃縮物をA収量をあまり落さずに得ることができ，しかも得られた濃縮物は不快臭味が少く，色調がよくなる。この精製法はA濃縮物をさらに精製して天然A結晶とする場合にも有効な工程と考えられ，したがつて，A 濃縮物の経済的濃縮法の一環として，この精製法は十分採用し得ると思う。

---

* 試料を2倍量の石油エーテルに溶解後，5倍量宛の 90% メタノールで5回抽出をくり返し，メタノール可溶部と石油エーテル可溶部とに分離する方法。

Table 5. メタノール処理とメタノール，石油エーテル処理との比較
Refining efficiency of **a** method compared with that of **b** method.

試料番号およびA単位 Sample No. and vitamin A potency	方法 Method / 部分 Fraction (a 法 a method)	重量 Weight (%)	A単位 Vitamin A potency ($\times 10^4$ I. U.)	A濃縮率 Rate of concentration	A収量 Yield of vitamin A (%)	部分 Fraction (b 法 b method)	重量 Weight (%)	A単位 Vitamin A potency ($\times 10^4$ I. U.)	A濃縮率 Rate of concentration	A収量 Yield of vitamin A (%)
3 960,000 I. U.	可溶部 Soluble fraction	76.8	107.5	1.12	86.3	メタノール可溶部 Methanol soluble fraction	62.4	123.8	1.29	80.5
	不溶部 Insoluble fraction	21.4	28.8	0.30	6.3	石油エーテル可溶部 Petroleum ether soluble fraction	36.7	42.2	0.44	15.9
	計 Total	98.6			92.6	計 Total	99.1			96.4
4 1,340,000 I. U.	可溶部 Soluble fraction	70.6	177.0	1.32	93.3	メタノール可溶部 Methanol soluble fraction	46.5	206.5	1.54	71.5
	不溶部 Insoluble fraction	28.0	30.8	0.23	6.3	石油エーテル可溶部 Petroleum ether soluble fraction	52.6	64.3	0.48	25.1
	計 Total	98.6			99.6	計 Total	99.1			96.6
5 779,000 I. U.	可溶部 Soluble fraction	59.7	109.0	1.40	83.4	メタノール可溶部 Methanol soluble fraction	52.4	115.3	1.48	77.4
	不溶部 Insoluble fraction	34.5	23.4	0.30	10.5	石油エーテル可溶部 Petroleum ether soluble fraction	43.5	36.6	0.47	20.2
	計 Total	94.2			93.7	計 Total	95.9			97.6
6 1,050,000 I. U.	可溶部 Soluble fraction	69.8	120.7	1.15	80.4	メタノール可溶部 Methanol soluble fraction	54.5	135.5	1.29	70.3
	不溶部 Insoluble fraction	28.8	51.4	0.49	14.1	石油エーテル可溶部 Petroleum ether soluble fraction	44.4	65.1	0.62	27.6
	計 Total	98.6			94.5	計 Total	98.9			97.9

Table 6. クロマト区分の重量
Weight of alumina chromatographic fraction.

試料番号 Sample No.	供試料 Sample used	重量 Weight (%) クロマト区分 Chromatographic fraction I *	I **	II *	II **	III *	III **
3	c.	29.0	100	40.3	100	30.7	100
	a. s.	8.6		35.3		32.9	
	a. i.	20.4	70.3	5.0	12.4		
	b. m. s.	13.4		32.1		16.9	
	b. p. s.	15.6	53.8	8.2	20.4	13.8	45.0
4	c.	21.4	100	69.9	100	8.7	100
	a. s.	10.5		59.0		1.1	
	a. i.	10.9	50.9	10.9	15.6	7.6	87.3
	b. m. s.	3.7		39.3		3.5	
	b. p. s.	17.7	82.7	30.6	43.8	5.2	59.8
5	c.	28.2	100	48.5	100	23.3	100
	a. s.	6.7		32.8		20.2	
	a. i.	21.5	76.3	15.7	32.4	3.1	13.3
	b. m. s.	9.0		31.4		12.0	
	b. p. s.	19.2	63.1	17.1	35.3	11.3	48.6
6	c.	30.8	100	47.7	100	31.5	100
	a. s.	15.8		36.7		17.3	
	a. i.	15.0	48.8	11.0	23.1	14.2	45.2
	b. m. s.	8.9		30.4		15.2	
	b. p. s.	21.9	71.1	17.3	36.3	16.3	51.7

* クロマトにかける前の無処理試料に対する重量比
Weight percent of control before chromatography.

** 除去部分の割合
Ratio of eliminated part. (%)

Table 7. クロマト区分の濃度およびA収量
Vitamin A potency and yield of chromatographic fraction.

試料番号 Sample No.	供試料 Sample used	ビタミンA単位 Vitamin A potency クロマト区分 Chromatographic fraction I	Vitamin A potency II	A収量 Yield of vitamin A (%) I	Yield of vitamin A (%) II
3	c.	×10^4 I. U. 11.5	176.3	3.5	74.0
	a. s.	17.3	201.5	2.0	85.8
	b. m. s.	18.9	191.5	3.3	79.5
4	c.	22.5	159.0	5.0	83.0
	a. s.	53.8	162.0	4.7	79.0
	b. m. s.	44.6	201.5	1.7	82.6
5	c.	15.8	135.3	5.7	83.5
	a. s.	26.1	178.0	2.6	86.5
	b. m. s.	20.7	165.4	3.1	86.1
6	c.	34.0	183.0	10.0	83.1
	a. s.	23.8	189.8	4.3	80.0
	b. m. s.	23.8	192.0	2.9	79.1

c. 対照
Control.

a. s. a 法による可溶部
Soluble fraction by **a** method.

a. i. a 法による不溶部
Insoluble fraction by **a** method.

b. m. s. b 法によるメタノール可溶部
Methanol soluble fraction by **b** method.

b. p. s. b 法による石油エーテル可溶部
Petroleum ether soluble fraction by **b** method.

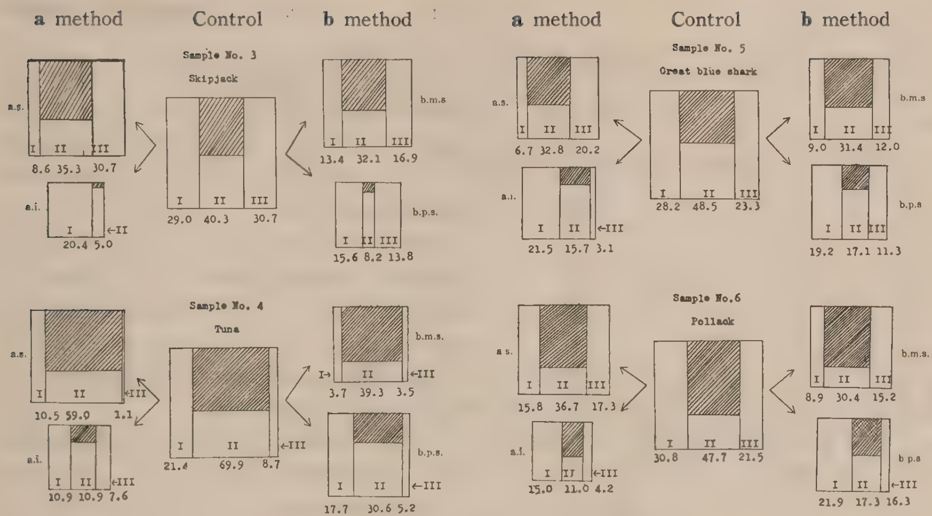


Fig. 1. クロマト区分の重量比
Isometric representation of weight ratio of chromatographic fractions I, II, and III.

斜線部分はビタミンAを示す
Hatched part: Vitamin A

数字は対照に対する重量比を示す
The numerals beneath each panel show the weight ratio based on the control used.

その他の略号は Table 6 および 7 の註参照
See note of Tables 6 and 7 for the other notations.

Table 8. メタノール処理によるAとDの分離
Separation of vitamin D by methanol treatment.
試料 7
Sample No. 7

抽出回数 No. of times of extracting	可溶部 Soluble fraction						
	重量 Weight (%)	A単位 Vitamin A potency	A濃縮率 Rate of concent-ration of A	A収量 Yield of vitamin A (%)	D単位 Vitamin D potency	D濃縮率 Rate of concent-ration of D	D収量 Yield of vitamin D (%)
1	35.6	×10⁴ I.U. 91.0	1.13	40.3	×10⁴ I.U. 104.8	0.40	14.3
2	17.6 (53.2)	91.8 (91.2)	1.14 (1.13)	20.1 (60.4)	191.2	0.72	12.7 (27.0)
3	10.2 (63.4)	75.8 (88.5)	0.94 (1.10)	9.6 (70.0)	251.2	0.95	9.7 (36.7)
抽出回数 No. of times of extracting	**不溶部 Insoluble fraction**						
	重量 Weight (%)	A単位 Vitamin A potency	A濃縮率 Rate of concent-ration of A	A収量 Yield of vitamin A (%)	D単位 Vitamin D potency	D濃縮率 Rate of concent-ration of D	D収量 Yield of vitamin D (%)
1	62.7	×10⁴ I.U. 63.2	0.79	49.5	×10⁴ I.U. 335.6	1.27	79.7
2	40.0	56.2	0.70	28.0	464.0	1.75	70.0
3	29.0	49.5	0.62	18.0	489.2	1.85	53.6

( ) 内は累計を示す。
The values enclosed in parentheses show the sum of pertinent items.

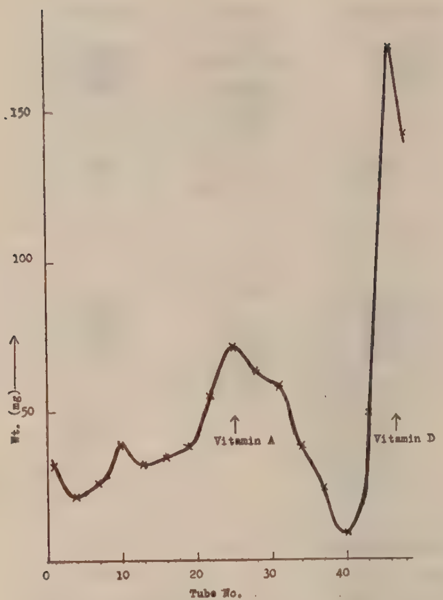


Fig. 2. 向流抽出法によるAとDの分離
The application of countercurrent method to the fractionation of vitamins A and D from methanol insoluble fraction in method **a**.
溶剤系　石油エーテル－90%メタノール
Solvent system: Petroleum ether－90% methanol
溶剤の容積比
Volume ratio of upper to lower phase: 1/1

（4） メタノールによりA濃縮物よりDを分離する試み

予備試験によりA濃縮物をメタノールで処理すれば可溶部はDの含量が低いことが分つたのでメタノール処理法を工夫すればAとDとの分離も可能と考えたのでメタノール処理によるAとDとの分離条件を吟味することにした。

試料 (7) を 10 倍量の 90% メタノールでくりかえし3回抽出した結果を Table 8 に示す。Table 8 に見るごとく，メタノール可溶部のA濃度は試料の 1.1 倍となり，そのA量は 70% に相当する。また，メタノール不溶部のD濃度は試料の 1.85 倍となり，そのD量は 53.6% に相当する。

メタノール処理によつてメタノール可溶部のD濃度が低くなり，不溶部のDが濃くなることは分つたが，この程度の分離ではまだ不十分であるが，メタノール濃度，使用量をかえればもつとよいAとDの分離ができそうである。また，Dが相当濃くなつたメタノール不溶部に二種の溶剤を用いる向流抽出法を行えば，更にAとDを完全に分けることができよう。参考のために小型向流分配装置でAとDの分離を試みた1例を Fig. 2 に示す。

従来，A濃縮物中のDはほとんど評価されなかつたけれども，今後Aと同時にDを分離するように研究を発展させればカツオ，マグロ肝油などD濃度の高い資源の利用に寄与することができる。

摘　　　要

A濃縮物を適当濃度のメタノールに加温溶解し，後冷却し析出する沈澱部を除去すれば，着色物，有臭物，炭化水素などが相当除かれたA濃縮物が得られる。

この方法はA濃縮物の経済的精製法として採用し得ることおよびAとDとの分離にも有効であることを指摘した。

文　　　献

1) Hoffman-La Roche and Co.: *British P.* 393,883 (1933).
2) 川上行蔵： 農化誌，**9**，1,206 (1933).
3) 東　秀雄・新間彌一郎・衣巻豊輔・山川健重： 特許 236,031 (1957).
4) 東　秀雄・山川健重・衣巻豊輔： 本誌，**20**，557 (1957).
5) 沼田克彦： ビタミン，**11**，444 (1956).
6) 新間彌一郎・田中　稔： 本誌，**25**，52–58 (1959).

テトラサイクリン類による処理が加工食品の品質に及ぼす効果—II.

CTCを併用したサケ塩蔵品中のCTC残存量および製品の品質向上*

富山哲夫・米　康夫

(1959年4月11日受理)

EFFECTIVENESS OF TETRACYLINES TREATMENT ON QUALITY IMPROVEMENT OF PROCESSED FOODS—II. QUALITY IMPROVEMENT AND CHLORTETRACYCLINE RESIDUE OF SALT SALMON DUE TO CTC-TREATMENT

Tetuo Tomiyama and Yasuo Yone**

The aims of this paper is to study the effectiveness of chlortetracycline (CTC)-treatment in quality improvement of salt salmon and to determine the CTC residue and its distribution in the salt salmon.

When CTC (0.3 ppm)-containing minced flesh alone was kept at −3 to 5°C, spoilage was hardly observed within 14 days as compared to the occurrence of incipient spoilage on the 5th day in case of flesh with no CTC. The CTC-containing flesh being mixed with 10% sodium chloride did not manifest any sign of spoilage after a two-week storage.

The penetration of CTC into semidressed sockeye salmon which was salted with CTC (21 ppm)-containing salt was higher in belly part than in back and tail flesh. CTC in various parts of salmon flesh was found inactivated rather readily during the storage at 0 to 5°C.

The CTC residue of salt chum salmon which was dipped for 30 minutes in a 56 ppm CTC-sea water solution prior salting was found less than 0.1 ppm after a 9-month storage. The distribution pattern of CTC in the salt salmon flesh was similar to that in flesh of dip-treated fresh salmon except for low content near the skin. This abnormal low content can be accounted for by the destruction of CTC coupled with the oxidation of oil beneath the skin. On broiling the salt salmon the CTC residue was further decreased to a value lower than 0.02 ppm level.

サバおよびイワシの塩蔵工程にクロールテトラサイクリン (CTC と略記) を適用すると，塩の使用量が減らせること，および品質が良くなることについて前報[1]で報告した。本研究ではサケの塩蔵工程に CTC を適用した場合における品質向上効果，CTC の体内分布および貯蔵中の CTC の減少について検討したので，以下報告する。

研究方法

1. 研究材料: 48°42′N, 168°31′E で漁獲され，1958年5月24日に母船揚げされたベニザケ (平均体重 1.6 kg) および 50°54′N, 167°37′E で漁獲され，同年6月17日に母船揚げされたシロザケ (平均体重 1.7 kg) を使用した。

* 本研究の概要は昭和 33 年 10 月に日本水産学会秋季大会 (新潟市) において発表した。

** 九州大学農学部水産化学教室 (Lab. Fish. Chem. Fac. Agr. Kyushu Univ.).

(印刷費負担)

2. CTC 含有塩による塩蔵処理： ベニザケの場合には冷凍サケ（体重 1.4kg，体長 45cm）を解凍後，内臓および鰓を除去して水洗し，水切りしてから直ちに 3mg の CTC を混入した 140g の局方食塩（CTC 含量 21ppm）を腹腔および表皮全面に均一に塗布した後，ポリエチレンの袋に包んで 0～5°C の冷蔵庫に放置した。なお放置中に滲出した体液は毎日注意して除いた。食塩および CTC が魚体内に充分滲透したと考えられた 9 日目から，CTC の滲透量を測定した。CTC 定量の試料は背部，腹部および尾部の肉それぞれ 20g を用いた。

3. 工船上における CTC 浸漬魚の塩蔵： 工船に揚げられたシロザケ 10 尾から内臓および鰓を除去し，洗滌後，そのうち 5 尾を CTC 56ppm 含有海水の 18l に 30 分間浸漬した。この時の浸漬温度は 6.5°C，魚体温度は 6.5°C およびデッキ温度は 8.7°C であつた。浸漬を終えてから魚体の 16% 相当の塩を撒布し，−7°C の部屋に一昼夜放置し，次に −20°C の冷蔵庫に搬入保管した。次いで仲積船で 7 月 5 日東京港に入港，−20°C に保蔵し，1959 年 2 月 6 日航空便で福岡に運び，分析に供した。

4. CTC の定量： 定量には富山，小林，米の簡易 cylinder plate 法[2]を用いた。この定量法には食塩の妨害作用はないが，試料組織中の油脂の過酸化物による阻害があるようである。CTC の滲透の模様を細かく知るためには，組織をカンナで薄層に切り，各片について定量した。この場合には試料が 1.6g～3.1g であつたから，ミクロブレンダーを用いて混和抽出した。

5. 揮発性塩基窒素（VBN と略記）の定量： 富山，原田の高温減圧蒸溜法[3]により定量した。

研 究 結 果

1. CTC 含有サケ肉に食塩を混和した場合の防腐効果および保蔵中の CTC の減少

塩蔵品の CTC 処理による品質向上効果を知るためには多数の試料を要するので，次のようなモデル試験を行つた。CTC に浸漬処理したベニザケおよび無処理のベニザケの背肉を皮下 5mm の部分まで採り，これを擂砕し，その一部に NaCl を 10% 混入した。かように調製した CTC を含む組織，含まないもの，無塩のもの，および含塩のものをそれぞれ 1g ずつ多数の 1cm 径の試験管に入れて 25～29°C および −3～5°C に放置した。その結果は Fig. 1 にみられるように，低温においた場合にも CTC および NaCl を含まない対照の肉は 5 日目以後急激に VBN が増加し，7 日目には完全に腐敗した。これに対し CTC 0.3ppm を含む肉は CTC 量が 0.06ppm に減少した 7 日目から VBN が僅かに増加した程度であり，CTC および食塩を含む肉の VBN は CTC が 0.02ppm に減少した 7 日目以後においても増加なく，試験開始後 14 日間変化しなかつた。

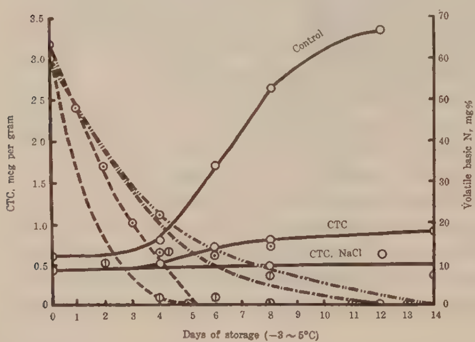


Fig. 1. Change in VBN and CTC content of minced sockeye salmon flesh with or without NaCl when kept at −3～5°C or 25～29°C. VBN. —○—; CTC without NaCl at −3～5°C, —·—⦿—·—; do. at 25～29°C. – –⦿– –; CTC with NaCl at −3～5°C, —·—Ⓘ—·—; do. at 25～29°C, – –Ⓘ– –,

他方，CTC の減少をみると，室温では勿論，低温においてもかなり速かに減少した。室温放置の場合には食塩が存在すると，CTC の減少速度が大きくなつたことは注目に価する。

2. 塩蔵中における CTC の滲透および減少

CTC を含む食塩をベニザケに塗布塩蔵してから 0～5°C に保蔵後，9 日目における各部筋肉への滲透量および更に保蔵を続けた場合の CTC の減少量を測定した結果は Fig. 2 に示すようである。滲透量は腹部に多く，背肉および尾肉の 2 倍であつた。これは腹腔よりの滲透の多いことを明示している。9 日目以後の減少をみると，魚体のいずれの部分においてもかなり速かに減少し，製造してから 24 日後の CTC の残存

率は 9 日目の値に対して腹肉，尾肉および背肉ではそれぞれ 16%，16% および 18% に相当した。なお，この塩蔵後 2 日間に滲出した体液は約 150cc であり，その CTC 含量は 12.8 ppm，また 8 日後の可食部（皮および肉)の CTC 総量は約 0.4 mg であつた。従つて食塩に含まれた CTC 量の約 64% は見かけ上滲出部に流失し，約 23% は滲出部，魚体表面および組織内で失活した計算になる。

3. 塩蔵シロザケにおける CTC の分布および焙焼による破壊

工船上で先ず CTC–海水に浸漬処理し，次に塩蔵したシロザケ中の CTC 残存量を，製造後約 9 ヶ月後に定量した結果は Table 1 のようである。CTC 処理区の塩蔵魚には皮（鱗を含む）および鰭に多く，肉に最も少い点は，冷凍ベニザケの場合[4]と同様であつた。肉の CTC 量は腹部，背部，尾部いずれの部分においても殆んど 0.1 ppm 以下であつた。対照区の魚の表面，即ち皮および鰭に僅かの CTC が認められたのは，恐らくは CTC 処理魚と接触して微量の CTC が附着したか或いは抽出剤にとけた表皮の酸化脂肪が検定菌の発育を阻止したためであろう。

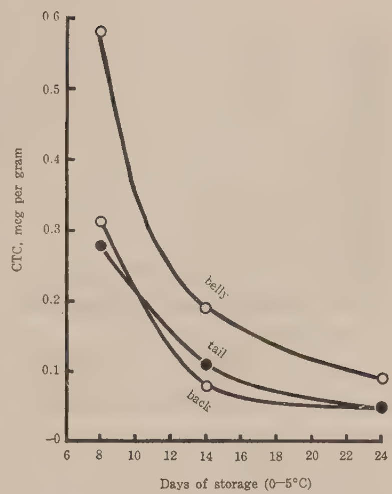


Fig. 2. CTC-contents in various parts of salt sockeye salmon flesh and their decrease during the storage.

Table 1. Distribution of CTC in various tissues of CTC (56 ppm)-treated salt chum salmon

Treatment		None			Dip in CTC-sea water				
fish no.		#1	#2		#3	#4	#5	#6	
date of assay		II/9	II/13		II/9	II/13	II/13	II/25	
body size (cm)					44	46	46	46	
Tissues		mcg/g CTC		Ave.	mcg/g CTC				Ave.
Skin	back	.09	.03	.06	.17	.26	.13	.31	.22
	belly	.09	.06	.08	.07	.08	.07	.10	.08
	tail	.11	.06	.09	.15	.37	.13	.24	.22
Flesh	back	neg.*	neg.	neg.	.02	.07	.12	.03	.06
	belly	neg.	.02	.01	.03	.04	.02	.07	.04
	tail	neg.	neg.	neg.	.02	.16	.08	.04	.08
Fin	dorsal	.02	.02	.02	.13	.25	.39	.28	.26
	pectral	.02	.04	.03	.12	.15	.25	.20	.18
	ventral	.04	.08	.06	.15	.10	.50	.28	.26
	caudal	.02	neg.	.01	1.27	.56	.25	.48	.64
	anal	.02	.06	.04	.13	.16	.13	.06	.12
Opercle		neg.	.02	.01	neg.	.17	.22	.16	.18
Vomer			.03		1.32	.15	.16	.18	.16

* neg. indicates CTC-content smaller than 0.01 mcg per gram tissue.

次に CTC 処理した塩蔵魚の表面から内部へかけての滲透模様を調べた結果は Fig. 3 に示してある。この滲透図をみると，表皮下に CTC の少い部分のある点が CTC 処理冷凍ベニザケの場合[1]と異つている。皮下脂肪層が酸化していることは官能観察によつても明かに認められたので，この皮下に CTC が少いのは滲透した CTC が脂肪の過酸化物によつて破壊されたためであることは明かである。

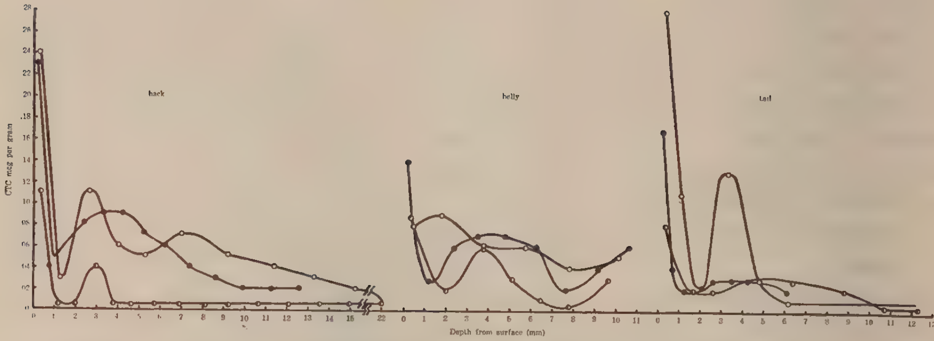


Fig. 3. CTC-penetration pattern in back, tail and belly flesh.

塩蔵シロザケを約 1.5cm の厚さに切り，220～236°C のオーブン中で焙焼した結果は Table 2 の通りである。焙焼後 CTC の検出されなかつた試料は 40%，検出されたものの平均値は 0.02ppm であつた。

Table 2. Destruction of CTC-residue on broiling unskinned salt chum salmon steaks

CTC, mcg/g before broiling	CTC, mcg/g, after broiling†					
	#1§	#2	#3	#4	#5	#6
Ave. .04	.02	neg.*	neg.	.02	.03	
.07	neg.	.02	.02	.02	.02	.02

† 7 minute-broiling at 230～236°C.
§ Steak number.
* neg. = ＜0.01 mcg/g CTC.

考　　察

塩蔵に CTC を使用して良質の製品を得ようとする試みは，サバおよびイワシで既に成功した[1)]。この場合，残存 CTC の塩蔵中或いは製品保蔵中の破壊が比較的に早かつたので，塩蔵の場合には CTC は食品添加剤として許容されてよいことを明かにした。

本研究においても CTC を含む塩でベニザケを塩蔵した場合，CTC の減少は低温でもかなり速かであつた。この減少の原因としては，(1) 塩蔵中に失われる組織水分と共に流失すること，(2) 塩蔵中に混入した血液或いは組織分解物による CTC の破壊促進，(3) 酸化脂肪による CTC の酸化分解等があげられる。ベニザケ塩蔵の場合，これらのうちでどの影響が最も支配的であるかについてみると，(1) による流失は塩蔵後9日目に約 64% に達し，恐らく (2)，(3) 等による失活が約 23% と見積られる。勿論低温での塩蔵においては (1) は塩蔵の初期に起り，(3) は主として貯蔵中に起る減少である。(3) の要因が CTC の破壊に対し重要なことは塩蔵シロザケの体分分布において酸化した皮下の脂肪層の部分に CTC が少いことから分る。Fig. 1 をみると，組織中の CTC は室温では食塩の存在によつて多少早く破壊されるが，これは食塩そのものによるのか，食塩の存在による二次的な影響かは不明である。

CTC 含有塩で塩蔵したベニザケの筋肉中における CTC の分布で興味ある点は腹肉に多いことである。塩蔵魚で最も変敗し易い腹部に CTC の滲透量が多いことは，CTC の併用によつて塩蔵品の品質が向上した主因であろう。また CTC 海水に浸漬してから塩蔵し，低温で長期間保蔵したシロザケの筋肉中の CTC 分布をみると，表層のみにあつて深部にはない点は CTC 処理鮮魚の場合と同様であるが，腹肉では内部から CTC が滲透したために腹腔に向うに従い CTC が増している。この点はベニザケの場合と同様に鮮度保持の点から重要視さるべきである。この長期保蔵した塩蔵シロザケ肉内の CTC 分布で特異的な点は，いずれの部分においても皮下に CTC が最も少ないことであつて，これは皮下脂肪の酸化に伴つた CTC の失活によると思われる。体表面における CTC 分布は不均一であつて，尾鰭および顎骨に最高 1.27－1.32ppm あつた以外は，概ね neg.—0.56ppm の範囲であつた。

塩蔵サケの場合には生食されることはなく，多くの場合焙焼される。焙焼後における皮付肉の CTC の残

存量は neg.—0.03 ppm であつたので，塩蔵工程に CTC の使用は許可されてよいといえる。

CTC 処理によつて塩蔵サケの品質がどの程度良くなるかについては，本研究では擂砕肉を用いてモデル試験を行つたに過ぎないが，0.3 ppm 程度の CTC をもつた肉に 10% の食塩を加えると完全に腐敗が抑制された。勿論，内臓抜きの魚体のままでは CTC は筋肉内に均等には滲透しない。従つて表皮および皮に近い層に滲透した CTC が外部から侵入した細菌の発育を抑制している間に，食塩が筋肉内に滲透すれば，組織が脱水され細菌の繁殖が抑制されるので，良質の塩蔵品がえられる筈である。もし筋肉の深部に細菌が既に繁殖した原料，即ち鮮度の悪い原料の場合には勿論 CTC と食塩との共用によつて良質の塩蔵品は期待できないであろう。

撒塩塩蔵の場合に，CTC を含む塩で塩蔵する方法と魚体を予め CTC 処理した後に塩蔵する方法との間の得失を論ずるのは，本研究の範囲では困難である。しかし塩蔵作業の上から考えると，もし塩蔵処理能力が不足して原料の鮮度が低下する懸念がある場合には，先ず魚体を CTC 液浸漬処理或いは撒布処理をして細菌の侵入を抑え，次に塩蔵すべきである。しかし漁獲量に対して塩蔵処理能力が充分にある場合には，内臓を除去し洗滌後，成るべく速かに CTC を含む塩で塩蔵した方が操作の点では簡単である。

総　　括

1. 滲透した CTC の 0.3 ppm を含むベニザケ肉は低温でよい鮮度を保持したが，更に 10% NaCl を加えることによつて VBN の増加は完全に抑制された。

2. CTC 含有塩でベニザケを撒塩した場合における CTC の肉への滲透量は腹肉が最も多く，背肉および尾肉の約2倍であつた。この滲透量は 0〜5°C においても比較的に速かに減少した。

3. CTC-海水に浸漬したシロザケを塩蔵し9ケ月低温に保蔵すると，筋肉部の CTC は 0.1 ppm 以下であつた。筋肉内部への CTC 滲透模様をみると，皮下の脂肪層に少く，腹部の内面に多いのが注目された。

4. CTC を含む塩蔵シロザケ (0.04 ppm) を焙焼すると，検出できない試料 40%，検出されたものの平均値は 0.02 ppm であつた。

本研究の試料の調製は日本水産 KK に依頼し，実施に当つては柿本・恒松両氏の御尽力をえた。また実験用の CTC の供与は日本レダリー KK に仰いだ。更に研究室においては北原慶子・森健児・豊田恭平の諸氏に助力をえた。ここに本研究の遂行に援助された各位に深謝の意を表する。

文　　献

1) 富山哲夫・杉谷　徹: 本誌，**24**，581 (1958).
2) 富山哲夫・小林邦男・米　康夫: 本誌，**24**，1012 (1959).
3) 富山哲夫・原田悠三: 本誌，**18**，112 (1952).
4) 富山哲夫・米　康夫: 本誌，**25**，67 (1959).

抄　　録

空圧深度計の中層トロールへの応用試験　K. A. SMITH: *Commercial Fisheries Review*, **19** (4), 6～10 (1957).　中層トロール漁具によつて漁獲に成功するためには網の正確な曳航深度を知る必要がある。曳綱の俯角を測定することによつて網の曳航深度は概略わかるが，種々の操業条件下において必ずしも正確な結果を期待できない。近年中層トロールの必要性が増大したので，実験的に1つの深度計が試作された。その深度計の原理は，既知の比重をもつ水中のある点の水圧は，その点における水深を示すことをつかつた。連続チューブの一端をトロール網に取付け曳綱に添わせて船のデッキまで導き，船上よりチューブを通して絶えず空気を送り込んで小量の空気を網側の一端から吹き出すようにしてチューブの中に水が浸入することを防ぎ，その時々のチューブ内の空圧を船上の空圧計で読みとつて網の曳網深度を知ることが出来た。この実験に用いた深度計の仕様を示すと次の如くである。(1) 圧縮空気ボンベ，即ち約 2,000 lb./sq.in (140.6 kg/cm²) の圧縮空気 300 cu. ft. (8.5 m³) 封入の標準型圧縮空気ボンベを使用。(2) チューブに空気を送り込む制限バルブ，(3) 簡単な空気圧力計，最初に使用した圧力指示目盛は 5 lb./sq.in (0.35 kg/cm³) 間隔のものであつたがもつと細い目盛の敏感なものが必要であることを知つた。精度を期待するには 2 lb./sq.in. (0.14 kg/cm²) 以上の目盛間隔にすべきでない。(4) 長さ 100 fm. (183 m)，内径 3/16 in. (4.8mm)，耐圧 300 lb./sq. in. (21.1 kg/cm²) の補強ゴムホース。(5) 長さ 100 fm.，径 3/8 in. (9.5 mm) のホース支持綱。この実験の範囲内においては，深度の指示は正確で信頼し得べきものであることを知つた。（鈴木）

漁網糸及び網，特に合成繊維材料からつくられたものについての試験方法　Ir. J. K. von WIJNGAARDEN: *International Fishing Gear Congress Paper*, **6** (6), 1～10 (1957).　漁具材料の性能は世界的に統一された方法によつてテストされることが望ましいので参考になると思われる若干の試験方法について述べる。単糸及び撚糸の大さは Tex (g/1000 m) で表わされるべきである。撚構成表示は 100 tex × Z 200 × 2 S 300 × 3 Z 400 で，これは次のような意味をもつ。単糸の太さ×撚方向(左)単糸撚数×合糸数，撚方向(右)撚数×片子糸数，撚方向，撚数。剛軟度は直径 4 cm のロッドに20回捲いてつくつた供試糸のコイルをバランスの片方の台に乗せて短径が 2.5 cm になるまで押えた後，他方の台に指針が中央を示すまで荷重するに要する重さをもつて糸の剛軟度とする。結節の強さは1つの結節に対する4本の脚の中何れをクランプして引張るかによつて異る結果が得られるが，図のBとDをもつて引張るのが最も合理的である。目返強力を測定するには dynamometer の応力歪曲線を利用するのが最も正確で便利である。また目返強力は結節をつくるときの張力に影響される。その張力は結節強力の 20% が適当である。目ずれ強力の測定も上と略同じ条件でテストされるが，clamping end は図の C, D を一方にAのみを他方にとる。ゆるみ抵抗は結節が編網中にゆるむことに対する評価を得るために行う。2本の糸で結節をつくりこの結節に 1g/5 tex の重りを 20 cm の高さから落下させてしめ，これを 60rpm の速度で回転する箱の中に入れ，一定回転数毎に中をあらためゆるみをしらべ，それらの試料の中央値(回転数)をゆるみの測度とする。網地のテストは上述の網糸のテストに準じて行われる。(下崎)

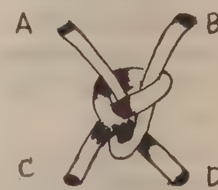


Fig.　Single Knot

Latex 標識をした Reader sunfish の生残　S. D. GERKING: *Trans. American Fish. Soc.*, **87**, 220～228 (1957).　黄色に着色した latex 液 0.2 *ml* を，121 尾の Reader sunfish (*Lepomis microlophus*) には後頭部皮下に，24 尾には背鰭基底後部の淋巴管に注射して，Indiana 州 Wyland 湖に放流した。別に左右の胸鰭や腹鰭を clip した魚 145 尾を対照として同時に放流し，それらの trap による再捕率を比較することによつて，latex 標識の価値を吟味した。放流後の 2 週間での再捕率は fin-clipping 21.9%，latex 21.4% と差は見られない。また，注射の部位による差もなかつた。しかし，1 年後の再捕率は，背鰭基底部では 25.0% で fiin-clipping の 25.6% と等しいが，後頭部では 4.1% と明らかに低かつた。赤い latex を用いた時も後頭部注射では1年後の再捕は全くなく，この部位は注射に不適当であることをみとめた。以上のことから，latex 注射という新しい標識方法は適当な部位を選びさえすれば fin-clipping と同程度の効果が期待できるほか，多種の変化をつけることもできるので有用である。なお，実験の初めには魚にウレタン麻酔をほどこして注射を行なつたが，なれるにしたがつてその必要はなくなつた。(能勢)

魚の成群行動の考察　YU. E. MIRANOVSKII: *Trudy Soveschanija po Fiziologii Ryb* (魚類生理学会議報告), 55～57 (1956).　非成群性の魚の代表としてシチウカ (*Esox* 属)，成群性の代表としてゴリャン（コイ科）を用い，条件反射形成実験を手がかりとして成群の適応的意義を解明しようとしている。シチュカでは群内の順位1の個体が最も速やかに条件反射を形成する。一方，ゴリャンは群内の

尾数が多いほど条件反射形成が速やかになる。そしてこの場合条件反射既形成の個体を未形成の群に加えると群の条件反射形成は加速される。また群内には高次神経活動の活動性の個体変異があり，これに加えて外囲との関連が個体毎に同一でないので，群内の個体間には条件付けの上で異質な面があるようである。(児玉)

Hauraki 湾のタイの産卵　R. M. DASSIE: *Trans. Roy. Soc. N. Z.*, **84** (2), 309～328 (1956).

ニュージランドの Hauraki 湾では夏期（11～1月）に *Chrysophrys auratus* FORSTER が産卵に集まる。調査は 1950～52 年にわたつて行われた。産卵調査には著者等が考案し改良を加えた高速採集網を用いた。本魚種は 10 尋前後の水深で産卵を行い，卵はその後表層に集まり 18°C で約 48 時間で孵化する。50 年には 11 月に水温が 18°C になり卵の分布密度もこの時期に最大であつたが翌年は冷水塊が湾内に出現し水温の上昇が遅れ 12 月になり 18°C に達したため卵の分布密度も 12 月になつて最大となり前年より 1 カ月遅れた。産卵に及ぼす水温の影響は他の要因より重大であることが認められた。魚体調査はトロールにより採集されたものを用いたため産卵群の成熟状態を知るのには適していないようであつた。それは調査魚体の成熟が産卵調査の結果よりかなり遅れていることが認められたことであり，産卵魚群とトロール漁獲群との生態的相異によるものと考えられた。この点本魚種の生態をより明らかにする必要を感じた。卵数の算定卵数の少い標本については全数を直接数えたが，多いものについては著者の考案した装置により所謂容量法で間接的に換算したが推計的誤差は無視すべきものであつた。また標本中の他魚種卵との割合は大体 85% 前後で全標本について大きな差異はなかつた。（服部）

水生菌防除に関する生物学的方法　I. A. MAZILKIN: *Trud. Soveshcha. Rybovod.*, 81～88 (1957).

従来，水生菌の防除には薬剤を用いてきたが，著者は生物とそれに対抗する生物による生物相の交代のある事に着目し，これを水生菌防除の基礎的研究に応用した。すなわち，水生菌に対してアクティブな細菌グループ（菌糸溶解性細菌）を土壌並びに堆肥 (Strain No. 29 その他）から，また天然河川（1941～1946 年，レニングラード河下流及びシャーシ河上流で，1956 年カム河上流で Strain No. 16, 19, 22, 28, 及び 29）から分離し，それらについて防除の基礎実験を行つた。これらの細菌は *Myxobacteriaceae* に属し，その繁殖は水生菌の繁殖状況と密接な相関々係を有し，水生菌のある所では比較的よく見られる。また，細菌の長期保存は比較的困難で，No. 29 は 2 年間保存されてもその活動性を保持していたのに，その他の Strain では数カ月の保存で活動性が低下した。No. 29 の水生菌に対する効果試験では試験区（ドジョウ殺菌卵＋水生菌＋No. 29）は第 1 日で卵は 15% 水生菌の感染を受け，活潑な胞子は認められず，第 2 日で菌糸は細菌の粘液によつて完全に覆われて溶解されつつあつた。游走子に対してもアクティブに働き細菌に接触したものは二重の皮膜に覆われて卵上でも発芽しなかつた。第 3 日では感染卵は認められず，菌糸は 100% 消失した。対照は第 1 日で 60% 水生菌感染卵を認め，第 2 日で 100% 感染し，活潑な胞子が多数認られた。水生菌の卵感染に対する細菌の影響試験では，No. 28 が最も強力で 86.7%，No. 29 が 71.7%，No. 16 が 75.0%，No. 19 が 53.4%，No. 22 が 33.4%，卵に対して防除できた。ドジョウ生卵に対する水生菌附除試験を No. 29 で行つた結果，試験区（生卵＋水生菌＋No. 29）が 98～100% の防除成績だつたが対照では 80～90% 感染した。また本菌はドジョウ発生卵に対し全く無害だつたと述べている。なお，以上の細菌の生物学的及び生物化学的諸性質にはふれていない。(佐野)

海綿の核酸　W. BERGMANN, J. C. WATKINS, and M. F. STEMPIEN, Jr.: *J. Org. Chem.*, **22**, 1308～1313 (1957).　Bermuda, Long Island, Bimini の 3 カ所で採集した 8 目 16 種の海綿の核酸の分析を行つた。多糖類を含む粗核酸標品を各試料の生 250 g から 30～155 mg を得て，紫外部の吸光をみると λ_{max} は 257～259 mμ, $E_{1cm}^{1\%}$ は 57.5～230 であり，2, 3 の例外を除いて殆んどの種が RNA および DNA を含んでいるもののようである。RNA の加水分解物の組成は adenine 10.0; guanine 15.3～20.1; cytidylic acid 8.5～11.0; uridylic acid 6.8～11.3; purine-pirymidine 1.35～1.66 であり，また DNA の組成は，adenine deoxyriboside 10.0; thymidine 9.0～11.1; guanine deoxyriboside 5.7～15.3; cytosine deoxyriboside 5.6～15.0; purine-pirymidine 0.94～1.05 であつた。一般に RNA は DNA より含量が多く，種によつては DNA が殆んどない。*Cryptotethia* だけは例外的に RNA が少く，全核酸の 4% を占めるのみであり，前に報告したように遊離ヌクレオシドが多量に存在することと併せて，特異的であるが，生理的原因によるか否かはさらに検討を要する。一般に海綿の核酸は多糖類と密に結合しており，*Cryptotethia* を例にとると核酸標品の 75% はそのような炭水化物であつて，59,780 r.p.m. の超遠心でも分れない。(永山)

イガイ Mytilus edulis の分割球と極葉の燐酸塩蓄積　W. E. BERG and D. M. PRESCOTT: *Experimental Cell Research*, **14**, 402～407 (1958).

イガイの卵，分離した分割球および極葉について放射性燐酸の蓄積比を測定した。卵の放射性燐酸塩を分別定量すると，96% は不安定な化合物，残りが安定な化合物であつた。燐酸の蓄積は受精後分割前の間では卵の部分による差は認められなかつたが分割後は分割球の表面積により異るようである。即ち細胞の単位容積当りの P^{32} 蓄積比は，極葉/AB＝

0.66; D/C = 0.65; CD/AB = 0.81 であり，細胞の単位表面積当りの P^{32} の蓄積比は，極葉/AB = 0.48; D/C = 0.83; CD/AB = 1.02 である。これらの値は酸素消費の値とも並行するものである。燐酸蓄積の limiting factor は明かでないが，その一つとして割胞の表面積の相違が考えられる。(永山)

ユウレイボヤ *Ciona intestinalis* の前および後分割球のチトクロム・オキシダーゼ W. E. Berg: *Biol. Bulletin*, **110**, 1～7 (1956). ユウレイボヤの4細胞期の卵から前及び後分割球を分離し，ミクロスペクトル法で各分割球ホモジェネートのチトクロム・オキシダーゼ活力を測定した。チトクロムオキシダーゼ活力の後分割球と前分割球との比は 1.8～4.5，平均 2.7 であり，後分割球が，前分割球の 2.7 倍のチトクロム・オキシダーゼ活力を有することになる。両分割球ともその直径は 103～104μ であるから，酵素活力の差は細胞の大きさによつて起つたものではない。チトクロム・オキシダーゼは一般にミトコンドリア中にあるといわれているが，ユウレイボヤの卵でも事実と考えられる。この結果，4細胞期で後分割球にミトコンドリアが多量にあると思われるので，以後の分化において後分割球が活性源として重要な役割を演ずるのではないかと想像し得る。(永山)

ユウレイボヤ *Ciona intestinalis* の前および後分割球の分析 W. E. Berg: *Biol. Bulletin*, **113**, 365～375 (1957). ユウレイボヤの4細胞期の前および後分割球のコハク酸脱水素酵素，アピラーゼ，酸性およびアルカリ性フォスファターゼ，リボ核酸を定量した。コハク酸脱水素酵素は前分割球/後分割球 (以下前/後比) 0.53; アピラーゼ前/後比 0.70; リボ核酸前/後比 0.91 で何れも後分割球に多く，一方酸性フォスファターゼの前/後比は 1.12 で前分割球に多かつた。両分割球の大きさは前/後比 0.97～0.98，蛋白質は前/後比 0.99 であつた。後分割球に酵素活力が大きいことは，前報でも述べたようにミトコンドリアの分布に基くものと考えられる。(永山)

カシパン *Dendraster* の卵割初期におけるチトクロム・オキシダーゼの分布 W. E. Berg: *Experimental Cell Research*, **14**, 398～401 (1958).

棘皮動物の卵及び胚には代謝あるいは生理的機能が極軸に沿つて分布すると考えられているが，カシパンの卵について酵素の分布を観察した。16-細胞期の動物及び植物細胞を分離しチトクロム・オキシダーゼ活力 (Δ log. ferrocyt. *c*/Δ*t*) を測定すると，動物細胞で 0.028～0.124，植物細胞で 0.022～1.02 で植物細胞/動物細胞の比は 0.65～1.31，平均 0.96 ± 0.05 であり，両者間のチトクロム・オキシダーゼ活力には差を認め難い。初期の卵割時にはミトコンドリアの分布が一様であることが，チトクロム・オキシダーゼの分布の一様性に関連するものであろう。一旦分離した細胞は更に分割を続けても非組織的な細胞集団を生ずるだけで，blastula を形成せず正常な blastula に比しそのチトクロム・オキシダーゼ活力は小さいが，mesenchyme blastula または初期 gastrula の頃になると，動物細胞源のもののチトクロム・オキシダーゼは植物細胞源のものより 40% 位活力が大きい。(永山)

ハツキガイ類の色素 S. Bouchillox et J. Roche: *Bull, L'inst. océanograph.* No. 1054, 1～23 (1955). ハツキガイ類 *Murex*，テラツボ類 *Purpura* の色素は古来有名であるが，著者等は *M. trunculus*, *M. brandaris* の紫腺より分泌される粘液の成分をペーパークロマトグラフ法により研究し，この色素の前駆体を確認した。更に紫腺の抽出物をイオン交換樹脂により分離精製し，*M. trunculus* より2種，*M. brandaris* より1種の色原体を分離した。これらの色原体はすべて酵素または熱時 HCl により遊離する硫黄を含む基を有し，これが色素のインドキシルの前駆体と関連するものとした。また *M. trunculus* の色原体の内1つ (I) は他の1つ (II) 及び *M. brandaris* の色原体 (III) と異り，メルカプタン及び臭素を有しない。この色原体の吸収スペクトルは (I), Max. 271 mμ 及び 277.5 mμ, (II), Max. 277 mμ, 283 mμ, (III), 280～286 mμ で (II) 及び (III) は同じが非常に似たものである。(I) 及び (III) より製した色素のスペクトルはそれぞれ純粋な indigo 及び 6, 6′-dibromo indigo と一致した。結局 *M. trunculus* は *M. brandaris* の赤紫色の 6, 6′-dibromo indigo の他に青色の indigo 及び痕跡の indirubine を含む。(衣巻)

塩乾タラ製造中に燐脂質より遊離する脂肪酸の組成 A. Cardin, M. A. Bordeleau and A. Lamboise: *J. Fish. Res. Bd. Canada*. **15**, 555～558 (1958). 100 ポンドの開いたタラに 8 ポンドの塩を加え，48 時間軽く塩蔵後乾燥 (水分量 38%) としたものを試料とし，新鮮物と比較した。脂質は試料を初めアセトン，ついでエタノール，最後に石油エーテルで抽出し，アセトン及びアルコール抽出液は溶媒除去後残渣を石油エーテルで抽出し，石油エーテル部を合し溶媒を除去することにより得た。この脂質に 10 倍量 (wt./vol.) のアセトンを加え 0° で1夜放置し，燐脂質を沈澱せしめる。燐脂質は 1% H_2SO_4 エタノール溶液，ついで 7% KOH エタノール溶液中で加熱還流せしめて加水分解し，脂肪酸を得た。脂肪酸は低温結晶法により3部に分離し，更にメチルエステルとして分溜し，各フラクションの特数より Hilditch 法により成分脂肪酸組成を計算した。その結果，燐脂質の成分脂肪酸中 77% が塩蔵操作中に遊離し，その大部分は C_{20} 及び C_{22} 高度不飽和酸で，C_{16} の飽和及び不飽和酸もかなりの部分をしめることを見出した。(衣巻)

魚肉並びに魚肉製品の鮮度の化学的評価方法として揮発生還元性物質 (VRS) 価について L. Farber and P. A. Lerke: *Food Technol.*, **12** (12), 677

~680 (1958). 著者等はこれまでの一連の報告で鮮魚や缶詰魚肉の鮮度判定法として VRS に検討を加えて来たが，この報告はここ数年間に著者の破究室で集められた多くのデーターを総括して要約したもので，（魚肉）ヒラメ類，カサゴ類，オヒョウ，サケ，メカジキ，スズキ，クジラ（冷凍品）グチ（塩蔵品）タラ，ニシン（燻製）ニシン，ブリ（缶詰）アワビ塩水漬，アジ塩水漬，イワシトマト漬について VRS を測定し， 五官による評価並びに揮発性窒素化合物測定結果との比較を 10 表にまとめて報告した。 VRS は五官評価の結果と極めて密接な関係を示し，多脂性や赤肉の魚だけでなく脂肪の少ないものや白肉の魚にも，またクジラや無脊椎動物にも，或いはまた塩蔵，燻製，缶詰等の製品にも応用出来る事を指摘した。 VRS のすぐれている点は，蛋白の腐敗や油焼の検出にも応用出来る事，新鮮な試料と変敗した試料ではその価がかなりへだつているので判定が容易である事，測定方法や装置が比較的簡単で，その操作は一寸練習すれば実施できる事である。現在の方法では品質管理等の研究室向きであるが，これを工場等で原料の判定に使用するためには滴定法をやめて比色法にする事が望ましい。（外山）

還元糖のペーパークロマトグラムのための呈色剤としてのモリブデン酸アンモニウム H. EL KHADEM and S. HANESSIAN: *Anal. Chem.*, **30** (12), 1965 (1958). モリブデン酸アンモニウム，濃塩酸及び塩化アンモニウム溶液は還元糖のペーパークロマトグラムに対する呈色剤として用いられるが，著者等はモリブデン酸アンモニウムのみでも還元糖を容易に検出し，色々な利点を有することを述べている。即ち展開後クロマトグラム上のスポット（11 種の各糖 25γ について）は 10% モリブデン酸アンモニウムで散布後 100°C， 10 分の加熱で最初黄色に発色し，約 6 時間後には青灰色に変るが，そのもののクロマトグラムは熱に対して安定であり，呈色は放置しておいても無色のバックグランドに対して褪色せず，もし強い日光に当てなければバックグランドは数カ月間無色の状態を保つ，またこのスポットの検出は日光光線でも紫外線でも可能である。（平野(敏)）

魚の凍結と冷蔵 O. E. NIKKILA, R. R. LINKO: *Food Research*, **21**, 42~46 (1956).

冷凍魚の品質は凍結前の原料魚の鮮度は勿論のこと，凍結方法や凍結後の冷蔵方法によつて著しく影響される。バルト海産の鰊 (Clupea harengus var. membranus) を −35°C で凍結し， −20°C で冷蔵した場合に，その品質に影響する二，三の因子について検討した。（I）グレーズについて；グレーズした魚としない魚を，それぞれ空気を循環させた冷蔵室と，循環させない冷蔵室に貯え，一定期間後，それら冷凍魚の品質を myosin の変性した程度で判定した。この結果グレーズし，空気の循環しない冷蔵室に貯蔵したものが蛋白の変性最も少なく優れていた。（II）包装について；グレーズした凍結魚を 1kg 入のカートンに入れ，このカートン 20 個を一緒に，それぞれアルミニューム箔で裏打した箱と，裏打ちしてない箱に詰めて，冷蔵した場合を比較したが，いずれの場合でも品質に殆んど差異は認められなかつた。（III）凍結方法について；空気凍結法と密着凍結法を比較したが，密着凍結したものの方が冷蔵中に蛋白の変性が少なく優れていた。（IV）原料魚の鮮度について；死後強直前と死後強直後の魚を凍結した場合について検討したが，死後強直前の魚を凍結するとその後の冷蔵中に蛋白が著しく変性して品質は劣化した。（小泉）

γ 線で殺菌した硝酸塩，亜硝酸塩添加肉の貯蔵中に於ける変化 D. HOUGHAM, B. M. WATTS: *Food Technology*, **12** (12), 681~684 (1958).
擂潰した Pork に各種濃度の硝酸塩と亜硝酸塩を 2% の食塩と共に添加し，γ 線を照射して殺菌したに一定期間放置後，肉の色調，亜後，室温硝酸塩量の変化，脂肪の酸化の程度等を調べた。肉の色調は 570 mμ と 650 mμ に於ける吸光係数の比と，540mμ と 500 mμ に於ける吸光係数の比を以つて表わし，亜硝酸塩の定量は A.O.A.C. 法に従い，脂肪の酸化の測定には T.B.A. 試験を行つた。この結果，肉に添加した亜硝酸塩は γ 線照射によつて減少するが，200 p.p.m. 亜硝酸塩単独添加したものの色調が最も良好であつた。また肉に添加した硝酸塩は γ 線照射によつて亜硝酸塩に変ずるが，その量は僅かで肉を発色する程充分なものでなかつた。T. B. A. 値が γ 線照射直後一時的に高い値を示したが， これは γ 線照射によつて肉色素が酸化され，この酸化した肉色素が更に脂肪の酸化を促進したために T. B. A. 値が一時的に変り値を示したのであると考えられる。T. B. A. 値と肉の色調との間には或る種の関係があるものと思われる。（小泉）

水産物中の高度不飽和脂肪酸の源 P. B. KELLY, R. REISER and D.W. HOOD: *J.Am. Oil Chemists' Soc.*, **36**, 104 (1959).
コエビ，カニ，硅藻 *Nitzschia closterium*, *Platymonas* および淡水産藻類 *Chlovella pyrenoidosa* を研究室で飼育した。これらのコエビ，カニに低脂肪飼料，綿実油飼料あるいはメンハーデン油の飼料をあたえ，各動物の脂肪酸組成および天然の動，植物性プランクトンの脂肪酸組成を吸光係数を用いて測定した。その結果，コエビおよびカニを低脂肪飼料で飼うと，それらの体中の高度不飽和酸は著しく減少する。しかし，餌の中に脂肪を加えるとすみやかに回復する。また，綿実油には高度不飽和酸が存在しないのに，コエビに綿実油飼料をあたえると，体中に多量の高度不飽和酸ができる。すなわち，コエビには低度不飽和酸を高度不飽和酸にかえる能力があり，その程度は他の陸せい動物，硬骨魚などよりも高い。高度不飽和酸がどういう経路で水産物中に由来するのか，またこれらの酸がどうして体内合成されるかを研究するには，水産植物および動物脂肪酸の構造をきめることが重要である。（山川）

日本水産学会会則

総　　則

第 1 条　本会は日本水産学会と称する。

第 2 条　本会は水産学の進歩並びに水産に関する知識の向上と普及を図るのを目的とする。

第 3 条　本会は前条の目的を達するために次の事業を行う。

1. 水産に関する学術研究会，講演会，談話会，及び分科会等の開催。
2. 会誌（日本水産学会誌）の発行。
3. 学術上，応用上功績顕著なものの表彰。
4. その他前条の目的を達するために必要な事項。

第 4 条　本会の事業年度は毎年4月1日に始まり翌年3月31日に終る。

会　　員

第 5 条　会員には次の4種がある。

1. 普通会員　2. 団体会員　3. 賛助会員　4. 名誉会員

第 6 条　普通会員は水産学を修めた者又は本会の趣旨に賛成する者。

団体会員は本会の事業に関係する研究・教育機関で本会の趣旨に賛成するもの。

賛助会員は本会の趣旨に賛成し事業を援助するもの。

名誉会員は水産学の功労者で，評議員会で推薦された者。

第 7 条　本会に入会するには会員2名の紹介により本会に申込み，理事会の承認により決定される。

第 8 条　会員は会費として次の金額を前納しなくてはならない。会員には会誌を毎号1部ずつ配布する。

1. 普通会員　会費1年　1,200円
2. 団体会員　会費1年　3,000円
3. 賛助会員　会費1年　10,000円
4. 名誉会員　会費　要しない。

第 9 条　本会の会則に背き又は本会の名誉を損う行為のあつた会員は，評議員会の決議によつてこれを除名する。

第 10 条　会費を滞納した会員は，評議員会の決議によつてこれを除籍することが出来る。除籍された者で滞納会費に相当する金額を納めるときは，会則第7条の手続を経て再び入会を許すことがある。

役員及び委員

第 11 条　本会には次の役員及び委員を置く。

1. 役員：会長1名，副会長1名，評議員50名，編集長1名，副編集長1名，編集理事36名（一般関係18名，化学関係18名），会計理事2名，庶務理事4名，監査2名。
2. 委員：学会賞詮衡委員（委員長1名，副委員長1名，委員若干名）。

第 12 条　評議員は毎年総会前に各支部別に選出する。但し次の者は定員外評議員とする。

1. 副会長，支部長，編集長，副編集長，学会賞詮衡委員長，同副委員長，年会・大会・分科会の委員長，本会選出日本農学会評議員。
2. 本会運営上特に必要な場合，10名を限度とし評議員会の議を経て会長が推薦した者。

会長，副会長，理事，監査，編集長及び副編集長は評議員会に於て選出する。

学会賞詮衡委員は学会賞授賞細則に則り選出する。

役員及び委員の任期は1ヶ年とする。但し再任を妨げない。

第 13 条　会長は本会を代表し会務を総括する。副会長は会長を補佐し，必要に応じ会長の任務を代行する。評議員は会の重要な事項を審議する。

編集長は会誌の編集と発行を行う。副編集長は編集長を補佐し，必要に応じ編集長の業務を代行する。

理事は会務を処理する。監査は会務を監査する。学会賞詮衡委員は日本農学賞授賞候補及び日本水産学会賞授賞者を決定する。

会　　議

第 14 条　会議には総会，評議員会，理事会及び編集会議の4種がある。

第 15 条　総会を通常総会及び臨時総会とする。通常総会は毎年1回4月又は5月に会長が招集し，出席会員により成立する。臨時総会は評議員会で必要と認めた時これを開く。

第 16 条　総会は会務の報告を受け，予算その他必要な事項を議定する。

第 17 条　評議員会は会長，副会長及び評議員を以て組織し，会長が招集又は評議員5名以上から議案を添記して開会の請求があつた時に開く。

第 18 条　評議員会は会則の改正，予算案の承認，その他重要な事項を審議決定する。

第 19 条　理事会は会長，及び理事を以て組織し，会長が招集する。

第 20 条　理事会は会務を処理し，評議員会の承認を受ける。

第 21 条　編集会議は編集長，副編集長及び編集理事を以て組織し，編集長が招集する。

支　　部

第 22 条　本会には支部を置く。

第 23 条　支部長1名，支部幹事若干名を置く。

第 23 条　支部長及び支部幹事はそれぞれ支部で選出され，会長が之を委嘱する。

附　　則

第 25 条　会員が会則を改正しようとするには，会員20名以上の賛成を得て評議員会にその案を提出する。

第 26 条　会則の施行に必要な事項は別に細則で定める。細則の制定及び変更は理事会の決議によつてこれを行う。

第 27 条　予算の範囲内で有給職員を置くことができる。

第 28 条　本会の事務所は「東京都港区芝海岸通り6丁目　東京水産大学内」に置く。

第 29 条　本会は昭和 34 年4月1日から実施する。

昭和 34 年度役員及び委員　　（敬称略）

会　　長　　田内森三郎

副会長（定員外評議員）　岡田彌一郎

監　　査　　高山重嶺，松江吉行

編集長（定員外評議員）　久保伊津男

副編集長（　〃　）　猪野　峻

評議員　北海道…佐野誠三，五十嵐彦仁，木下虎一郎，添田潤助，井上直一，吉村克二，斎藤恒行

東　北…今井丈夫，土屋靖彦，木村喜之助

関　東…末広恭雄，新崎盛敏，大島泰雄，稲葉伝三郎，高山重嶺，檜山義夫，日比谷京，中井甚二郎，天野慶之，岡田郁之助，右田正男，野中順三九，高橋豊雄，森　高次郎，橋本芳郎，東　秀雄

中　　部…野口栄三郎，川本信之，立野新光，中村中六，三宅正人，川尻　稔
近　　畿…清水　亘，川上太左英，松井佳一，門田　元
中国四国…松井　魁，新田忠雄，吉田　裕，花岡　資，矢部　博，松平康雄，石山礼蔵
九　　州…相川広秋，内田恵太郎，黒木敏郎，伊藤　僴，富安行雄，辻田時美，富山哲夫

会長推薦に依る評議員（定員外評議員）　藤永元作，石井省一郎，岡　孝信，眞田健三，山崎喜之助，小林小一郎，岡井正男，中谷由路，有賀松男

海洋学研究連絡委員（定員外評議員）　熊凝武晴，栗田　晋

支部長（定員外評議員）

北海道…田村　正　東　北…松平近義　関　東…栗田　晋　中　部…内橋　潔
近　畿…木俣正夫　中国四国…中村広司　九　州…高田幸二

年会委員長（定員外評議員）　松江吉行
大会委員長（　〃　）　木俣正夫
農学会評議員（　〃　）　松江吉行，久保伊津男
農学会運営委員　新崎盛敏

文部省科学研究費等分科審議会委員

一　　般…大島泰雄　　化　　学…橋本芳郎

同　　協力委員

北海道…小林新二郎，五十嵐久尚
東　　北…今井丈夫，土屋靖彦
関　　東…日比谷　京，久保伊津男，鴻巣章二，小野豊樹
中　　部…川本信之，立野新光
近　　畿…川上太左英，木俣正夫
中国四国…松平康雄，松本文夫
九　　州…入江春彦，瀬川宗吉，高田幸二

学会賞詮衡委員長（定員外評議員）　森　高次郎
同　副委員長（　〃　）　岡田彌一郎
同　委　員

北海道…佐藤　栄，時田　郇，村田喜一
東　　北…今井丈夫，土屋靖彦，木村喜之助
関　　東…久保伊津男，大島泰雄，松江吉行，右田正男，岡田郁之助，森　高次郎
中　　部…岡田彌一郎，川本信之，三宅正人
近　　畿…清水　亘，松原喜代松，松井佳一
中国四国…花岡　資，松平康雄，吉田　裕
九　　州…柏田研一，福田博業，塚原　博

編集理事

[一　般]　妹尾次郎，本多勝司，神田献二，保科利一，野村正恒，土井長之，林　繁一，須藤俊造，江草周三，草下孝也，新崎盛敏(兼)，中村守純，門田　元，元田　茂，村上　豊，宮崎千博，塚原　博，山本護太郎

[化　学]　平野　弘，荻野珍吉，久保田　穣，菊池武昭，松本重一郎，岡田　稔，山川健重，平尾秀一，鴻巣章二，内藤幸次，橋本周久，河端俊治，高木光造，米　康夫，浅野元一，上野三郎，藤井　実，新田忠雄

庶務理事　須山三千三，宝谷幸男，新崎盛敏，高木和徳
会計理事　堀江　進，吉原友吉

学 会 賞 授 賞 細 則

1. 賞 の 性 格

功績賞とする。

2. 授　賞　数

年2篇として1篇は水産一般，1篇は水産化学関係とする。但し該当者（論著）のない場合は授賞しない。

3. 授賞者の資格

日本水産学会々員

4. 授賞論文の選定基準

既印刷の学術上，応用上功績顕著なる論著

5. 詮 衡 方 法

i　詮衡委員の選出

各支部毎に3名を選出し，毎年2月末日迄に本部に通知する。但し関東支部は6名とする。互選により詮衡委員長及び副委員長を決める。詮衡委員及び詮衡委員長の任期は1年とする。

ii　詮衡委員長は詮衡委員会を主宰し，庶務理事及び庶務委員の補佐により詮衡を促進する。

iii　候補論文の選定並びに授賞論文の決定方法

評議員は詳細な推薦の理由書を附して委員長に候補論文を1篇指定通告する。委員長はこれを部類別に候補論文表として一括印刷し，詮衡委員に配布し，詮衡委員は候補論文表に基き部類別に順位を付して委員長に提出し，委員長は授賞論文の順位を決定する。委員長は委員会を開いて最後的決定をなし，賞状の原案は詮衡委員長これを作成して会長に提出する。

6. 授　　　賞

賞状及び賞金を以てする。賞金は1篇2万円とする。総会の際授賞する。

附　則

農学賞授賞者の推薦はこの細則に準じて詮衡委員長が行う。

雑　　録

昭和34年度日本農学大会水産部会

(日本水産学会年会)

時　　；　昭和34年4月1日～5日
場　所；　東京大学教養学部
委員長；　松江吉行
副委員長；　新崎盛敏，江草周三

○総　会　　4月2日　13.00～14.00

1. 開会の辞（須山三千三理事）
2. 議長選出（松井佳一氏）
3. 昭和33年度会務報告（宝谷幸男理事）
4. 昭和33年度収支決算報告（吉原友吉理事）
5. 昭和34年度予算（吉原友吉理事）
6. 会長挨拶（田内森三郎会長）
7. 日本学術会議報告（森　高次郎学術会議員）
8. 海洋学研究連絡委員会及び海洋総合研究所設立について（栗田晋氏）
9. 昭和33年度日本水産学会賞授与
   受賞者　宮崎千博氏「小型機船底曳網の研究」
   小坂部勇氏「分別凝固並びに低温煮熱法による毛蟹及び鱈場蟹缶詰の青変防止に関する研究」

昭和33年度会務報告

1. 会　議

年　会	33年4月2日～6日	於東京水産大学	委員長	久保伊津男氏
大　会	33年10月12日～15日	於新潟大学理学部	委員長	内橋　潔氏
評議員会	5回（内書状によるもの3回）			

2. 会　誌

Vol. 23, No. 12～Vol. 24, No. 11 の 12 冊を刊行

原　稿	33年3月まで受理したものの印刷残	56 篇
	33年4月から34年3月末まで受理	169 〃
	33年度印刷篇数	188 〃
	Vol. 24, No. 12 (4月号) 以後に残るもの	37 〃

3. 会員移動

33年3月末現在	1,425 名
34年3月末現在	1,467 〃

内　訳

名誉会員　4名（国内2名，外国2名）
入　　会（個人 101，団体 2，賛助 9）
退　　会（〃　32，　〃　1，除名 41）
(除名予定者　49 名)

4. 本年度間の主要議事

a. 役員関係

(イ) 本会選出海洋学研究連絡委員会委員2名を定員外評議員とすることにした。(Vol. 24, No. 3)

(ロ) 関根編集長の辞任にともない Vol. 24, No. 6 より大島泰雄氏が編集長に，岡田郁之助氏が副編集長に就任した。(Vol. 24, Nos. 6〜7)

(ハ) 任期未了の大島泰雄氏とは別に，本学会から文部省科学研究費配分委員候補者2名を選出し，日本学術会議に推薦の結果，次の如く決定した旨の通知があつた。

大　島　泰　雄 氏（一般）
橋　本　芳　郎 氏（化学）(Vol. 24, No. 12)

b. 経理関係

(イ) 昭和33年度年会委員長久保伊津男氏から年会経費の残余金を学会に寄附の申出があつたので，これを受入れ，年会記念号の発刊を決定した。

(ロ) 本学会誌刊行に対し文部省研究成果刊行費補助金10万円の交付決定をみたので，本年度予算の修正を行つた。(Vol. 24, No. 1)

(ハ)

日本農学会分担金	33 年度分	7,220 円
	34 〃	9,870 円（前払）
原子力シンポジウム分担金		5,000 円
工場排水と漁業に関する講演会共催分担金		1,500 円

(ニ) 下記 c の(イ)に対する寄附金として 50,000 円を大日本水産会より受けた。不足分 12,101 円は予備費より支出した。

c. 事業関係

(イ) 北太平洋漁業会議に来加学者の来日を機会とし，本会において同学者を招待し漁業関係シンポジウムを開催した。(Vol. 24, No. 8)

(ロ) 河川協会，繊維学会，日本化学会，工業用水研究会，日本繊維機械学会，高分子学会，日本機械学会と共催で工場排水と漁業に関する講演会を開催した。(Vol. 24, No. 10)

d. 委員会関係

(イ) 日本海洋学会と共に海洋総合研究所創設促進合同委員会を設置し，全評議員に促進委員を依嘱した。更に同幹事委員として大島泰雄，栗田　晋，久保伊津男，田内森三郎，高山重嶺，中井甚二郎，森高次郎，檜山義夫の各氏（アイウエオ順）を選出した。(Vol. 24, No. 2)

(ロ) 前記漁業資源関係シンポジウム開催に当り，協力委員会委員として次の三氏に委嘱した。藤永元作，中井甚二郎，松山義夫の各氏

(ハ) 業界と学会の研究上の交流を目的とする業界研究連絡委員会（仮称）の設置を計画し，第一段階として同準備委員会を設け具体案の検討を行うことにした。

委員長　小野　豊樹
委　員　近藤　仁，野中順三九，檜山義夫，橋本芳郎，川田三郎，金田尚志の各氏

e. 学会賞等関係

(イ) 日本水産学会賞受賞者は次の如く決定した。

水産一般部門　　宮崎　千博氏「小型機船底曳網の研究」
水産化学部門　　小坂部　勇氏「分別凝固並びに低温煮熟法による毛蟹及び鱈場蟹缶詰の青変防止に関する研究」

(ロ) 本年度は日本農学会賞候補者の推薦は行わぬことにした。

(ハ) 大河内記念賞については下記研究を推薦し受賞が決定した。

「平頭鮎に関する研究」　平田　森三氏 (Vol. 24, No. 8)

(ニ) 逸見賞に対し下記2件を学会より推薦した。

「分別凝固並びに低温煮熟法による蟹缶詰の青変防止に関する研究」　小坂部　勇氏

「鮪青肉に関する研究—I, II, III」　平尾　秀一氏　外5名

(ホ) 朝日科学奨励金に対して下記1件を推薦した。

「イセエビの増産に関する研究」　野中　忠，井上正昭

f. 国際会議関係

昭和 34 年度国際会議代表派遣について下記の申請を行つた。

国際会議名	派遣代表者数
第10回国際冷凍会議	1
国際動物血液シンポジウム	1
イワシ生物学に関する世界科学会議	2
国際海洋会議	4
汚物海中投棄に関する第1回国際会議	1

(Vol. 24, No. 10)

g. 一般事項

(イ) 昭和 34 年度年会は次の如く決定した。

委員長　松江　吉行氏

日　時　4月1日～3日

場　所　東京大学教養学部

(ロ) 日本学術会議員選挙有権者の資格審査の基になる資料の分類提出を日本農学会々長に行つた。

(Vol. 24, No. 4)

(ハ) 昭和 34 年度より抄録委員若干名を置くことにした。

(ニ) 学会事務局で会誌の合本用ファイルを取次ぐことにした。

h. 会則の変更

会則第 11 条，1. を下記の如く変更した。

役員: 会長1名，副会長1名，評議員 50 名，編集長1名，副編集長1名，編集理事 36 名 (一般関係 18 名，化学関係 18 名)，会計理事2名，庶務理事4名，監査2名。……の如く変更した。

昭和33年度収支決算報告

収入の部 科目	金額	支出の部 科目	金額
前年度繰越金	492,029円	学会誌印刷費	2,333,892円
普通会費	1,729,490	学会誌発送費	137,556
賛助会費	370,000	通信雑費	107,000
著者負担印刷費	580,260	年会費	20,000
文部省補助金	100,000	大会費	20,000
年会よりの受入金	201,445	支部補助費	50,000
雑収入	397,236	集会費	10,080
広告料	225,000	日本農学会分担金	7,220 9,870
外国購読料	77,453	原子力シンポジウム分担金	5,000
原稿用紙代	13,590	学会賞金	20,000
予金利子	12,276	事務人件費	305,200
バック・ナンバー代	34,690	事務雑費	33,313
その他	34,227	雑支出	339,338
漁業資源シンポジウム資金	50,000	漁業資源シンポジウム費	62,101
		繰越金	459,890
計	3,920,460円	計	3,920,460円

(註) 日本農学会分担金は 33, 34 年度分を支出　　賛助会費 37 万円の内訳 33 年度分 34 件
32 年度分 3 件

昭和 34 年度予算

収入の部 科目	金額	支出の部 科目	金額
前年度繰越金	459,890円	学会誌印刷費	2,140,000円
普通会費	1,500,000	学会誌発送費	140,000
賛助会費	350,000	通信雑費	110,000
著者負担印刷費	520,000	年会費	20,000
文部省補助金	100,000	大会費	20,000
雑収入	330,000	支部補助費	50,000
		集会費	15,000
		日本農学会分担金	9,900
		原子力シンポジウム分担金	5,000
		学会賞金	40,000
		事務人件費	330,000
		事務雑費	35,000
		雑支出	290,000
		予備費	54,990
計	3,259,890円	計	3,259,890円

昭和34年度日本農学大会水産部会

（日本水産学会年会）

プ　ロ　グ　ラ　ム

学会賞受賞者記念講演

小型機船底曳網の研究 ……………………………………………… 宮　崎　千　博

分別凝固並びに低温煮熟法によるケガニ及びタラバガニ缶詰の青変防止に関する研究 ……………………………………………… 小坂部　勇

特　別　講　演

米・加・アラスカに於ける鮭鱒漁業とその資源管理について ……………… 佐　藤　隆　平

水　産　一　般

1. シロナガス鯨の耳垢栓について ……………………………… °市原忠義・大隅清治（鯨研）
2. 魚類の耳石における Ca の沈着について，—V. 温度の影響 ……… 入江隆明・平山京一（広大水畜）
3. メバルの耳石年輪と成長について ……………………………… 水　江　一　弘（長崎大水）
4. タチウオの年令と成熟について ………………………………… 塚　原　　博（九大農）
5. 北太平洋公海に分布するシロサケの地理的起原の鱗相による識別—II. 1957年漁期における組成百分率の確率紙法による推定 …………… 佐　藤　隆　平（東北大農）
6. 椎体長曲線によるマアジの系統の考察，およびマアジ脊椎骨の相対成長について ……………………………………………… 山　田　鉄　雄（長崎大水）
7. 太平洋赤道水域産メバチの形態について ……………………… 檜山義夫・°鉄　健司（東大農）
8. 東北海区における表層性稚魚の分布について ………………… 小　達　繁（東北水研）
9. Fin-clipping 法による養鰻池のウナギ総数の推定について ………… 能　勢　幸　雄（東大農）
10. ペルー国における古代漁網について …………… °松井佳一（近大農）・松本　巌（神戸大教育）
11. 鮭鱒流網の張力測定 ………………………………………… °近藤　仁・鈴木　誠（水大）
12. 外房におけるサバ跳ね釣漁業の漁獲性能 …………………… 小　倉　通　男（水大）
13. 千葉県銚子港におけるイワシ揚繰網漁業の漁獲性能 ………… 井　上　実（水大）
14. マグロ延縄漁業の漁獲性能—III. 船型別・漁具構成別の性能差について ‥ 平　山　信　夫（水大）
15. マグロ延縄の運動の模型実験—I. ……………… 山口芳男・°川村　昭・宮崎芳夫（水大）
16. 二艘曳汽船底曳網の模型実験—II. ……………………………… 谷　口　武　夫（水講）
17. 2重刺網に関する基礎試験 ……………………………………… 野　村　正　恒（東水研）
18. 中層トロール漁業用オッターボードについて ……………… °小林喜一郎・井上直一（北大水）
19. 底曳網の仕立と網成りについて ……………………………… °中才　啓・鈴木乙彦（京大農）
20. 底曳網のすり網の形状の変化について ……………………… 川上太佐英・°鈴木乙彦（京大農）
21. イワシ巾着網の網裾の沈降速度について ……………………… 飯　高　勇　之　助（京大農）
22. 集魚用螢光色灯の研究—III. 海中の色光感と集魚群態例とについて ……… °黒木敏郎・中山　博（鹿大水）・西田　稔（鹿児島水試）
23. 螢光水銀灯および白熱灯の集魚効果と水中照度 ……………… 草　下　孝　也（東大農）
24. カタクチイワシの資源生物学的研究—II. 成熟について ……… °竹下貢二・相川広秋（九大農）
25. マサバの食餌利用に関する研究—VIII. カタクチイワシ餌料の転換効率の成長に伴う変化 ……………………………… °高橋正雄・畑中正吉（東北大農）
25. サバなどによるカタクチイワシの消費量 ……………………… 畑　中　正　吉（東北大農）
26. 日本海西部のマイワシ資源の来游率について ………………… 土　井　長　之（東水研）

57. 養鰻池における水変りの予防としての抗輪虫剤の探索…………伊藤　隆・岩井寿夫（三重県大水）
58. 養鰻池の底質と生産量について—II.………………………°稲葉伝三郎・堀　賢平（水　　大）
59. イカリムシ寄生に及ぼす *Mesocyciops L.* の影響について …………笠原正五郎（東大水実）
60. トビゴイに関する研究—V. 密度の影響その他について ……°中村中六・笠原正五郎（東大水実）
61. 天然餌料によるニジマスの飼育について……狩谷貞二（東北大農）・°白旗総一郎（富士和養鱒場）
62. 蓄養場の環境条件についての一考察…………………………橘　高　二　郎（神戸大教育）
63. 人工魚礁の効果—I.…………荻野珍吉・°宇野　寛・井上　亘・上島章生・松原陽二郎（水　　大）
64. サザエの棲息場所とその成長について………
……°宇野　寛・橋本康生・竹下　徹・須賀次郎・原田　進（水　　大）
65. バカガイの棲息密度と貝殻の変異 ……°金田菊夫・工藤盛徳（神奈川水指）・猪野　峻・相良順一郎
・浜田颯子（東水研）・吉田多摩夫（東大農）
66. アカザラガイの増殖に関する研究—I. 養蠣場における稚貝の生態について………………………………谷田専治・°菅野　尚（東北水研）
67. 仙台湾，宮城県南部海区におけるアカガイ増殖に関する研究
……°菅野　尚（東北水研）・今井丈夫（東北大農）
68. 貝類人工採苗の理論とその応用……………………………日下部　台次郎（広大水畜）
69. カキ養殖場の生態学的研究—II
ニシ類の分布と環境条件の関係 ……………今井丈夫・°小金沢昭光・木名瀬元夫（東北大農）
70. カキ養殖場の生態学的研究—III
アマモの除去による生産性の改善 ……………今井丈夫・°伊藤　進・加藤芳則（東北大農）
71. 松島湾におけるカキ採苗と珪藻との関係について ……°佐藤重勝・菊地省吾・菅野　尚（東北水研）
72. 松島湾におけるカキ幼生生育場としての沖合の価値について
……°菊地省吾・菅野　尚・佐藤重勝（東北水研）
73. アサリの海水からのビタミン B_{12} 摂取について ……………°相良順一郎・簗瀬正明（東 水 研）
74. マダコの産卵期について…………………………………田　中　二　良（東 大 農）
75. ナマコの成長におよぼす個体密度の影響について ……………大島泰雄・°崔　　相（東 大 農）
76. エゾアワビの餌料の選択性について……………………………酒　井　誠　一（東北大女川実）
77. 北海道産ウニ類の摂餌について…………………………………富　　士　　昭（北 大 水）
78. ホタテガイ移殖場のヒトデ類について……………………………田村　正・富士　昭（北 大 水）
78. 海産珪藻の大量培養法に関する基礎的研究 ……………………°平野礼次郎・大島泰雄（東 大 農）
79. 海産帯鞭類の *Skeletonema* との混合培養について ……………°津田　勉・松平近義（東北大農）
80. 原生動物（*Glaucoma sp.*）の寒天利用による高濃度培養について ……代　田　昭　彦（東北大農）
81. 底棲餌料生物による汚泥中の栄養物質の回収利用に関する研究—I.
Chironomus dorsalis の人工培養による摂餌栄養機構の解析
……°代田昭彦・松平近義・狩谷貞二（東北大農）
82. 有色鞭毛虫等による *Tigriopus*, *Artemia* の無菌培養
……°白石景秀（東北大農）・Luigi PROVASOLI（Haskins 研究所）
83. タマミジンコ *Moina macrocopa* STRAUS の繁殖に対する追肥の効果に関する研究—I.
追肥による Gamogenesis→Parthenogenesis の吟味 ……………村　上　　豊（広大水畜）
84. ムスジガジの産卵習性と仔魚……………………………………藤　田　矢　郎（和布刈水族館）
85. カワアナゴ *Eleotris oxycephala* TEMMINCK *et* SCHLEGEL（ハゼ類）
の産卵および稚魚について……………………道津喜衛（九大農）・°藤田矢郎（和布刈水族館）
86. トカゲエソ *Saurida elongata* の卵発生と幼期………道津喜衛・上野稚正・°水戸　敏（九 大 農）

87. 九州産ヤマメの生活史—I ……………………………………木　村　清　朗（九 大 農）
88. 合成繊維漁網使用によるブリのイケス網養成について ……………原田輝雄・熊井英水（近 大 農）
89. ブリ・カンパチ等の皮膚に寄生する吸虫の一駆除法について …………原　田　輝　雄（近 大 農）
90. シイラに寄生する橈脚類の同義語について ………………………椎　野　季　雄（三重県大水）
91. アコヤガイを母介とする大型半円真珠（プラスチック製核）の養殖について—II.
………小 竹 子 之 助（徳島水試）
92. 的矢湾における真珠の巻き方—当年採取真珠について ………………阿 山 多 喜 也（的矢養蠣研）
93. 養殖真珠が形成される位置とその形質—I.
いわゆる"うかし入れ"の真珠について ……………………°青木　駿・森岡範郎（富士真珠）
94. 養殖真珠が形成されている位置とその形質—II.
いわゆる"ふくろ入れ"の真珠について ……………………°青木　駿・森岡範郎（富士真珠）
95. 流れ藻の海藻学的研究—XII.
33年度調査の概要および打上げ藻の調査 …………瀬川宗吉・°沢田武男・吉田忠生（九 大 農）
96. 流れ藻の海藻学的研究—XIII.
津屋崎沖合の流れ藻量の季節的変化 ………………瀬川宗吉・沢田武男・°吉田忠生（九 大 農）
97. オゴノリの放出四分胞子の構造……………………………………沢　田　武　男（九大水実）
98. 尾鷲湾における海藻の分布と海況との関係について ……………瀬木紀男・°喜田和四郎（三重県大水）
99. 奄美大島に産する海産顕花植物について ………°野沢洽治（鹿大水）・野沢ユリ子（鹿児島純心高校）
100. オゴノリの養殖について（中間報告） …………………………片　田　　実（水大木更津）
101. 茨城県浅海増殖事業の効果性に関する調査—III.
コトヂツノマタの増殖について ……………………………………藤　本　　武（茨城水試）
102. テングサ漁業における禁漁期の効果‥°山崎　浩・大須賀穂作（静岡水試伊豆）・大島泰雄（東 大 農）
103. テングサ生産量の添加率について‥‥°山崎　浩・大須賀穂作（静岡水試伊豆）・大島泰雄（東 大 農）
104. ワカメの生態に関する研究—IV. ワカメの体形成について ……………斎 藤 雄 之 助（東大水実）
105. ワカメの生態に関する研究—V.
ワカメの配偶体から芽胞体着生までの経過について（予報） ……………斎 藤 雄 之 助（東大水実）
106. コンコセリスの垂直的成長について……………………………………尾　形　英　二（水　講）
107. セメントに穿孔したコンコセリスについて……………………………尾　形　英　二（水　講）
108. アサクサノリ糸状体の病害について…………°野沢ユリ子（鹿児島純心高校）・野沢洽治（鹿 大 水）
109. *Porphyra* sp. の Conchocelis-phase から葉状体が出現する過程について
………三浦昭雄（水大）・伊藤　茂（都 水 試）
110. 薬品処理貝殻を使用するアサクサノリの人工採苗について
………°藤山虎也（広大水畜）・本田信夫（岡山水試）・藤山和恵（福山暁の星学院）
111. アサクサノリの培養について—I. 生長の速さと pH……………°須藤俊造・梅林　脩（東 水 研）
112. ノリの芽いたみに関する研究—I ノリに有害な海水の存在 ………須藤俊造・°梅林　脩（東 水 研）
113. 人工海水によるノリの培養試験における二・三の知見
………°佐藤美和・佐藤孜郎・松本文夫・伊藤啓二（広大水畜）
114. 北海道室蘭産のスサビノリについて……………………………………黒　木　宗　尚（東北水研）
115. 大船渡市門之浜湾内のノリ生育状況について ……………………°佐野　孝・谷井　潔（東北水研）
116. 内湾の生産性に関する研究—I. ノリの生育に及ぼす海況の影響………佐　野　　孝（東北水研）
117. 海中生物の発する超音波騒音について …………………………橋本富寿・°間庭愛信（漁 船 研）
118. ニジマスの一顆粒性白血球について……………………………………佐　野　徳　夫（水　大）
119. 魚血塗抹標本にみられる核影について…………………………………結　城　了　伍（北 大 水）

120. 魚類赤血球にみられる新しい機能……………………………………結城了伍（北大水）
121. 魚類血球凝集の特異性について……………………………………末広恭雄（東大農）
122. 仔鯉血液の血色素濃度その他の正常値に関する二，三の考察…………村地四郎（広大水畜）
123. 硬骨魚類副腎の間腎細胞の肥大と退化…………………………小栗幹郎・日比谷京（東大農）
124. 越年アユの内分泌腺……………………………………………本間義治（新潟大理）
125. 魚類の排泄物について…………………………………………川本信之（三重県大水）
126. 板鰓類の網膜活動電位…………………………………………小林博（水講）
127. 網膜電位より見たフリッカー融合頻度—I．魚種間比較の可能性 ‥°田村保・羽生功（名大農）
128. 沿岸魚の生態に関する研究—I．メバルの飼育実験 ……………°飯塚景記・畑中正吉（東北大農）
129. 仙台湾底曳漁場におけるカレイ類とヒトデの相互関係 …………°小坂昌也・畑中正吉（東北大農）
130. 魚探によるコアユの生態調査………………………………………白石芳一（淡水研）
131. 建網漁場における魚群の生態 ……………………………………°野本義秀・小林新二郎（北大水）
132. 小湊附近に現われるギンポ類の稚魚について ……………………増田辰良・°鈴木稔（水大小湊）
133. 海鷹丸の得た異体類の仔魚について………………………………妹尾次郎（水大）
134. 流れ藻に関する研究・流れ藻に伴う稚仔魚—II．
昭和 33 年度の津屋崎附近における調査 …………………内田恵太郎・°庄島洋一（九大農）
135. 根室沖より得られたエボシダイ科の一幼魚に就いて……………………小林喜雄（北大水）
136. チカ *Hypomesus japonica* の産卵について…………………………浜田啓吉（北大水）
137. アユの産卵と砂礫の大きさとの関係…………………………………大島泰雄・°石田力三（東大農）
138. アユの産卵行動と産卵床の構造 ……………………………………大島泰雄・°石田力三（東大農）
139. ニジマスの発生に伴う比重の変化について…………………………白旗総一郎（富士和養鱒場）
140. カサゴの卵巣循環について …………………………………………水江一弘・°立石新吉（長崎大水）
141. メバルの精巣循環と精子形成について ……………………………水江一弘・°立石新吉（長崎大水）
142. メバル卵巣の季節的循環について …………………………………°水江一弘（長崎大水）
143. コウイカ *Sepia escutenta* Hoyle の胚期における甲の成長について
………八木貞二（東大農・東医歯大）
144. 東京湾産コウイカ *Sepia esculenta* Hoyle の甲の成長について
………八木貞二（東大農・東医歯大）
145. 同一鱗の継続観察による魚鱗の生長………………………………山田寿郎（北大水）
146. 日本産魚類の側線鱗痕（いわゆる鱗様体）について …………°小林久雄・酒井斌至（愛知学芸大）
147. アコヤガイの濾過水量に及ぼす水温及び低塩分濃度の影響について‥‥田中啓陽（三重水産高）
148. アコヤガイ貝体の pH 変化が真珠形成に及ぼす影響—I．
生活力低下時における真珠形成…………………………………和田浩爾（真珠研）
149. イサザアミ（*Neomysis intermedia*）の生態について—I．
体長組成及び産卵数の季節的変化 ……………………………°村野正昭・松江吉行（東大農）
150. イセエビのフィロゾーマの飼育とその脱皮について………………野中忠（静岡水試伊豆）
151. ガザミのゾエア幼生の酸素消費量について…………………………八塚剛（高知大実）
152. 海産二枚貝類の中腸腺における比較的低分子量有機物質の集積について
………°吉田多摩夫・松江吉行（東大農）
153. 水族館における海産魚 10 種の索餌日周期………
………°平田八郎（北大水）・井上喜平治（須磨水族館）・小林新二郎（北大水）
154. 魚類の摂餌における相互作用 ……………………………………°関野清成・飯塚景記（東北大農）
155. マアジの成長と食物消費との間の関係—II．……………………°鈴木智之・畑中正吉（東北大農）

156. 流れ藻とそれにつく魚類の関係……………………………………広　崎　芳　次（江ノ島水族館）
157. 流れ藻につく魚類と水温との関係……………………………………広　崎　芳　次（江ノ島水族館）
158. ガラモ場の生物群集—I．藻に附着する動物の季節変化
……………°布施慎一郎・原田英司・宮地伝三郎（京大理瀬戸）
159. ヨシノボリの河川陸封型について—I．生活史のあらまし ………°水野信彦・児玉浩憲（京 大 理）
160. ヨシノボリの河川陸封型について—II．成魚の外部形態の比較 ……°水野信彦・児玉浩憲（京 大 理）
161. さかなの生産と群集内の相互関係—I．消化管内容物のちがいについて
………°川那部浩哉・児玉浩憲（京 大 理）
162. さかなの生産と群集内の相互関係—II．さかなの相互関係の生産に及ぼす影響（予報）……………………………………°川那部浩哉・児玉浩憲（京 大 理）
163. 鯨類種族の血液型による集団遺伝学的研究……………………………藤　野　和　男（鯨　研）

水　産　化　学

165. 海藻のチトクロームCに関する研究—I．海苔チトクロームCの単離と二・三の性質について ……………………………………°橋本周久・松浦文雄（東 大 農）
166. サケ・マス類のヘモグロビンに関する研究—III．サケの2種ヘモグロビンの沈降恒数と酸素解離曲線 ……………………………°橋本周久・松浦文雄（東 大 農）
167. 魚類血液の生化学的研究—XV．血清蛋白の組成と色素結合量に見られる特性……………………………………………………斎　藤　　要（鹿 大 水）
168. サケ缶詰肉の褪色に関する研究—I．……………………………°金光庸俊・松浦文雄（東 大 農）
169. 魚類のカロチノイドに関する研究，アジ及びカタクチイワシのカロチノイドの検索 ……………………………………………°平尾秀一・菊池　嶺（東 水 研）
170. マボヤの生化学的研究—III．被嚢中の色素について ……………土屋靖彦・°鈴木芳夫（東北大農）
171. 魚類表皮の青緑色色素—V．Ichthyoverdin methyl ester と biliverdin methyl ester の類似性……………………………………°野村　正・土屋靖彦（東北大農）
172. 水産動物の色素に関する研究—VIII．アカガイ及びサルボウ筋肉のカロチノイド……………………………………………西　堀　幸　吉（ノートルダム清心女子大）
173. 水産動物の色素に関する研究—IX．（その1）ウニ類（3種）棘のナフトキノン……………………………………………西　堀　幸　吉（ノートルダム清心女子大）
174. 水産食品の褐変について ………………………野中順三九・黒部宗市・°小泉千秋（水　　大）
175. タラバガニ缶詰肉の褐変現象に関する研究—V．煮熟工程と製品の褐変度との関係（その2）……………………………………谷川英一・°長沢善雄（北 大 水）
176. イオン交換樹脂による幽門垂 proteinase の精製 ……………斗ケ沢宜久・°勝又悌三（岩手大農）
178. 各種水産生物のカルボニックアンヒドラーゼの比較研究—I．……°清水千秋・福原忠信（長崎大水）
179. アルギナーゼ (Alginase) の研究—IV．………………………斎藤恒行・°辻野　勇（北 大 水）
180. 魚肉中のアミンの生成—IX．チロシン，チラミンの分離定量…………太　田　冬　雄（鹿 大 水）
181. 魚肉中のアミンの生成—X．チロシン，チラミンの消長………………太　田　冬　雄（鹿 大 水）
182. ヒメエゾボラ貝唾腺中 Tetramin の存在……………………°浅野元一・伊藤正雄（東北大農）
183. 魚類におけるトリメチルアミンオキシド (TMO) の生理的意義に関する研究—IV．海産魚（その2）…………………………橋本芳郎・°岡市友利（東 大 農）
184. 水産食品の腐敗中毒に関する研究—X．魚種別による腐敗毒形成能の差異
………°河端俊治・鈴木　茂（予研）・輿津知明（埼玉衛生研）
185. 水産養品の腐敗中毒に関する研究—XI．*Proteus morganii* のヒスチジン脱炭酸酵素に関する研究（その2）……………………°鈴木　茂・河端俊治（予　研）

186. 魚類筋肉の燐酸化合物に関する研究—VI. 燐化合物含量の個体差及び部位差について……………………………………………………中　野　智　夫（東北大農）

187. 水産動物筋肉中の有機燐酸化合物に関する研究—XV. 白肉と血合肉中の核酸成分の変化の比較 ……………………………斎藤恒行・°新井健一・田中ツネ（北 大 水）

189. 水産動物筋肉中の有機燐酸化合物に関する研究—XVI. 貝肉中のアデノシンデアミナーゼに就いて ……………………………°斎藤恒行・新井健一・田中ツネ（北 大 水）

190. 水産食品の包装材料について ……………………………………野中順三九・°小泉千秋（水　　大）

191. 真空包装に関する研究—III. ポリエステル・フイルムによる真空包装に就いて………………………… 秋場　進・山口　恒・久保和子・°宮原正悠（日本真空包装東京研）

192. アサクサノリの生化学的研究—I. 培養による窒素成分の変化 ………°佐藤孜郎・佐藤美和・松本文夫・伊藤啓二（広大水畜）

193. 寒天ゲルのシネリシスについて……………………………………………谷　井　　潔（東北水研）

194. チノリモの化学成分に関する研究 ………………………………°柿本大壱・金沢昭夫（鹿 大 水）

195. イタニグサより寒天の新製造法に関する研究—II. 稀薄苛性アルカリによる加圧抽出について ……………………………°小島良夫・福島保明・香野　実（水　　講）

196. 蜜豆缶詰内の寒天ゼリーに関する研究—I. ゼリー補強剤の効果について ………白石友義・°小島良夫・稲益献二（水　　講）

197. 蜜豆缶詰内の寒天ゼリーに関する研究—II. 貯蔵中のゼリー強度及びその他の変化について ……………………………白石友義・小島良夫・°稲益献二（水　　講）

198. サケ缶詰のアドヒージョン防止について—II.……………………°高橋豊雄・竹井　誠（東 水 研）

199. クエン酸によるカニ缶詰のストラバイト生成防止………………… 山　田　明　男（日本水産研）

200. 貝類蛋白質の研究—VIII. ハマグリ閉殻筋のトロポミオシンの分離………馬　場　春　夫（栄　　研）

201. 貝類蛋白質の研究—IX. ハマグリの殻内液の成分（その2）………°馬場春夫・小畠義樹（栄　　研）

202. サザエの肉について…………………………………………………髙　橋　豊　雄（東 水 研）

203. 即殺及び苦悶死がコイ肉蛋白に及ぼす影響について ……………右田正男・°大竹茂夫（東 水 研）

204. 乾燥による魚介肉蛋白質の変性について—II. 電気泳動的研究 ………°松本重一郎・奥山恵美子（東 水 研）

205. 魚肉アクトミオシンの粘度に関する研究—II. 試料の保存による粘度変化 ………右田正男・°鈴木たね子（東 分 研）

206. 魚類の肉質変化に関する生化学的研究—XIV. 細菌酵素液による myosin 区の凝固現象と蛋白分解作用 ……………………………斎藤　要・°日高富男（鹿 大 水）

207. サメ鰭蛋白 Selachin の化学的研究—III. 耐熱温度に関係する二・三のアミノ酸について ……………………………………………土屋靖彦・°村瀬昌彦（東北大農）

208. 魚肉蛋白の熱凝固性について ……………………………………°清水　潮・清水　亘（京 大 農）

209. 魚肉の蛋白組成—II. myosin 及び actin の抽出について ………°志水　寛・上田侃男・清水　亘（京 大 農）

210. 加熱による魚肉肉粥の粘度の変化 ………………………°志水　寛・細川　康・清水　亘（京 大 農）

211. カツオ節及びその他食品のイノシン酸含量 …………………………°藤田孝夫・橋本芳郎（東 大 農）

212. カツオ節製造中のエキス成分の変化 ………………………………°鴻巣章二・橋本芳郎（東 大 農）

213. カツオ節の品質—VII. カツオ節中に於けるイノシン酸ヒスチジン塩 (IPM-His) の個体変動について …………田村祐子・石倉　大・°大石圭一・村田喜一（北 大 水）

214. ニジマス発生中のエキスアミノ酸の変化—I. 遊離アミノ酸 ………°須山三千三・高山昭俊・岩崎則夫（水　　大）

215. ニジマス発生中のエキスアミノ酸の変化—II. 結合アミノ酸 ········°須山三千三・高山昭俊・岩崎則夫（水　大）
216. ニシン卵のアミノ酸組成について ···························安藤和夫・°内藤幸次（北海道衛研）
217. 水産動物肉に関する研究—XXXXI. エビ肉エキス中のアミノ酸について（その2）·······································°藤田真夫・遠藤金次・清水　亘（京 大 農）
218. 水産動物肉に関する研究—XXXXII. イカ肉エキス中のアミノ酸について ········°遠藤金次・藤田真夫・清水　亘（京 大 農）
219. 塩辛類の味に関する研究—I ·································°工藤英郎・土屋靖彦（東北大農）
220. ユナ（紅藻, *Chondria crassiaulis*）のエキス成分のアミノ酸組成について ········村田喜一・高木光造・°栗山光央（北 大 水）
221. 海藻の栄養化学的研究—II. 二・三海藻体のアミノ酸組成について ········°佐々木　劭・土屋靖彦（東北大農）
222. アサクサノリの風味について—V. アサクサノリのペプタイドについて ········土屋靖彦・°佐々木　劭（東北大農）
223. *Proteus morganii* のヒスタミン生成作用について（続報）········木俣正夫・°河合　章（京 大 農）
224. 魚肉ソーセージに関する細菌学的研究—II. 魚肉ソーセージから分離した二・三の *Bacillus* の増殖と培地の酸化還元電圧について ······木俣正夫・°赤松幹夫（京 大 農）
225. 魚肉ソーセージに関する細菌学的研究—III. 魚肉ソーセージから分離した *Bacillus* の腐敗力について ····························木俣正夫・°赤松幹夫（京 大 農）
226. ねり製品の内部腐敗に関する研究—V. *Bacillus* 属菌の繁殖に及ぼす酸化還元電位の影響···横　関　源　延（東 水 研）
227. 魚肉ねり製品の製造に関する基礎的研究—II. ポリ燐酸塩添加によるスリ身の“だれ”と水晒によるその防止について ······大城善太郎・°越智通秋・但馬惟友（鹿 大 水）
228. 魚肉ねり製品の製造に関する基礎的研究—III. 原料魚肉の水晒による“足”の強化について ··········°大城善太郎（鹿大水）・中村俊郎（鹿児島水試）・武田健二（鹿 大 水）
229. 魚肉ねり製品の製造に関する基礎的研究—IV. 卵白蛋白質添加による弱足原料の足の補強について·····································大 城 善 太 郎（鹿 大 水）
230. 魚肉ソーセージの褪色に関する研究··············岡村一弘（大阪市衛研）・°横山理雄（上野製薬研）
231. 魚肉ソーセージの軟化現象について—IX.························°内山　均・天野慶之（東 水 研）
232. カマボコの足に対するアルカリ金属塩の影響及び尿素添加の効果 ··°岡田　稔・石田正男（東 水 研）
233. ねり製品原料魚肉の保蔵法について ········°宇野　勉（北水試）・徳永俊夫（北水研）・中村全良（北 水 試）
234. 魚肉ねり製品に対する燐酸塩類の研究—VII. 魚肉の吸水性に関する研究 ········岡　村　一　弘（大阪市衛研）
235. ねり製品（及び魚肉ソーセージ）に関する研究—VIII. 縮合燐酸塩と Mg^{++} 及び Ca^{++} との相乗効果について················°三宅正人・林孝市郎・野田宏行（三重県大水）
236. サンマの脂質について—I. 肉中脂質の溶剤による分別 ··········°長谷克男・川崎典子（東北水究）
237. 油脂類のガス吸収について（CO_2, N_2, O_2 の吸収速度及び溶解度）······石 川 安 太 郎（広大水畜）
238. 酸化魚油の抗菌作用に関する研究—XI. 不飽和脂肪酸メチルエステル酸化合物中の Carbonyl 化合物の分別 ····························豊　水　正　道（九 大 農）
239. 魚類の脂肪代謝に関する研究—II. 1-^{14}C 標識ステアリン酸を用いてのコイの油脂吸収・移動及び分布について ·······················土屋靖彦・°鹿山　光（東北大農）
240. 肝臓よりビタミン油の抽出—I. アルカリ消化法の改良 ········°新間彌一郎・田口倫子（東 水 研）

241. 北洋鮭鱒の生化学的研究—II. ベニザケのビタミンA及びカロチノイド
……… °平尾秀一・山田充阿彌・菊地　巖（東 水 研）
242. ビタミンAの消耗と蓄積に対する一考察……………………………山 村 彌 六 郎（東北水研）
243. アブラガレイの幽門垂・腸のビタミンAについて …………山村彌六郎・°武藤清一郎（東北水研）
244. ビタミンAとその類似物質との相互関係について—I. ビタミンAとアンヒドロビタミンA ………………………………………°鹿山　光・土屋靖彦（東北大農）
245. 淡水魚の V.A$_1$ 及び V.A$_2$—VI. 稚ゴイを用いての飼育実験… °秦　満夫・大西登史良（東北大農）
246. 北洋鮭鱒の生化学的研究—I. ベニザケのビタミンB群
……… °村山繁雄・簗瀬正明・田部井菊子（東 水 研）
247. 海藻のビタミンに関する研究—V. コリン及びイノシトール
……… °金沢昭夫・柿本大壱・柏田研一（鹿 大 水）
248. 海藻のビタミンに関する研究—VI. ビタミン B$_{12}$ ……………°金沢昭夫・柏田研一（鹿 大 水）
249. 放射線による魚類色素蛋白の変化について—II. ……………°大野　駿・松浦文雄（東 大 農）
250. 魚肉アクトミオシンの物理化学的性質に及ぼすγ線の影響について……大　竹　茂　夫（東 水 研）
251. γ 線照射による魚貝肉の褐変について—I. ………天野慶之・°山田金次郎・松村治子（東 水 研）
252. 食品微生物に対するγ線の作用—III. 照射後の環境条件と増殖能との関係（その2）…………………………………°門田　元・三好英夫・柴田　弘（京大食研）
253. γ 線照射による *Cl. botuliunm* 菌芽胞の殺菌に関する研究
……… °小嶋秩夫（衞試）・関根　隆（水　　大）
254. γ 線照射による水産物の油脂の変化とその防止について（予報）
……… °外山健三・平野敏行・山鹿　宏（水　　大）
255. γ 線を照射した食品含有油脂の性状 ……………………°金田尙志・石井清之助（東 水 研）
256. 魚類血液中に於けるカドミウムと蛋白との結合 ………………°白井和雄・森高次郎（日大農獣）
257. 魚油の塩素化における塩素の通気速度について……………………鈴　木　康　策（水　　大）
258. 魚油中の水酸基，過酸化物が魚油の塩素化に及ぼす影響について………鈴　木　康　策（水　　大）
259. Histamin の変改簡易定量法 ……………………津田　厚・°森　健児・富山哲夫（九 大 農）
260. *CTC* による底引漁獲物の鮮度保持 ………………篠山茂行・°浜田七郎・山田紀作（西 水 研）
261. *CTC* 処理底引漁獲物における *CTC* の体内分布 ……富山哲夫・°米　康夫・小林邦男（九 大 農）
262. *CTC* によるサバの鮮度保持並びに *CTC* の体内分布 …………°米　康夫・富山哲夫（九 大 農）
263. *CTC* 処理塩鮭における *CTC* の体内分布並びにその加熱破壊……米　康夫・°富山哲夫（九 大 農）
264. 白鼠に径口及び腹腔内投与した *CTC* の体内内布 ………………米　康夫・°富山哲夫（九 大 農）
265. 漁獲直後の処理法が肉質変化に及ぼす影響の研究—I. 殺し方及び貯蔵法による鮮度保持効果………………土屋靖彦・°佐藤善夫・鈴木芳夫・中野智夫・工藤英郎・佐々木劭・村瀬昌彦・山添健一（東北大農）
266. 漁獲直後の処理法が肉質変化に及ぼす影響の研究—II. 貯蔵法及び二・三の処理法による鮮度保持効果…………………土屋靖彦・°佐藤善夫・鈴木芳夫・工藤英郎・佐々木劭・村瀬昌彦（東北大農）
267. 漁獲直後の処理法が肉質変化に及ぼす影響の研究—III. 二・三の処理法による鮮度保持効果 ………………………土屋靖彦・佐藤善夫・°鈴木芳夫・中野智夫・工藤英郎・佐々木劭（東北大農）
268. 漁獲直後の処理法が肉質変化に及ぼす影響の研究—IV. *CTC* 氷で処理したサンマの滲透量について …………………土屋靖彦・°野村　正・村瀬昌彦（東北大農）
269. 腸球菌に関する研究—VII. 腸球菌の検出法…………………………堀　江　　進（水　　大）

270. 腸球菌に関する研究—Ⅷ. 人の糞便における腸球菌についての観察……堀　江　進（水　大）
271. 電気殺菌法の研究—XXV. 好気性芽胞形成細菌胞子の加熱死滅における
糖類の影響 ……………………………………………°上野三郎・清水　亘（京大農）
272. 魚体組織の腐敗生産物に関する研究—Ⅲ. 魚肉からのカダベリン生成菌の
分離とその生成作用について ……………………………斎斎　要・°鮫島宗雄（鹿大水）
273. 水産食品の化学的保蔵の研究，ヒノキチオールを主とした防腐剤の複用
効果…………………………………………………………鉄本総吾（東水研）
274. 魚肉鮮度低下により生ずる揮発酸の生成母体について—Ⅰ. …………浅川末三（広大水畜）
275. 魚類体表面粘質物に関する研究—Ⅴ. ナマズの粘質物の腐敗過程 ‥富安行雄・°榎本則行（九大農）
276. ランタンブリュー反応による魚肉の鮮度判定から底曳き漁船の操業時刻
を推定する試み……………………………………………鈴木たね子（東水研）
278. 防腐剤の作用機構に関する研究—X. ホルムアルデヒド処理飼料に対す
る酸生亜硫酸塩の影響 ……………………………°山田金次郎・花井精子（東水研）
279. Marine bacteria に関する研究—Ⅰ. ……………………°柿本大壱・金沢昭夫（鹿大水）
280. Marine bacteria に関する研究—Ⅱ. 分離菌株の諸性状（その2）
………°坂井　稔・木村喬久・田熊　勉（北大水）
281. Marine bacteria に関する研究—Ⅲ. 寒天分解菌について（その1）
………坂井　稔・°木村喬久・田熊　勉（北大水）

水族生理学シンポジウム

1. 魚卵の授精…………………………………………………浜野　繁（北大水）
2. 魚類の発する音響に関する研究……………………………塚本芳和（東大農）
3. 魚類網膜電気現象の応用的意義……………………………田村　保（名大農）
4. 魚類網膜活動電位とその種類による相異…………………小林　博（水　講）
5. 視覚中枢誘発電位からみた魚類の色覚について……………小西治兵衛（三重県大水）

水産増殖シンポジウム

課題：「ミジンコの生産について」

1. ミジンコの摂餌機構と転換率………………………………松平近義（東北大農）
2. ミジンコの餌としての algae の形及び大きさ ……………藤田惣吉（静岡大）
3. ミジンコの冬卵産出後の繁殖様式…………………………杉目宗尚（淡水研）
4. 養魚池における冬卵を中心としたタマミジンコの生産に関する諸問題‥‥村上　豊（広大水畜）

生物環境シンポジウム

課題：密殖と環境

1. アコヤ貝の場合………………………………………………木村三郎（三重水試）
2. ノリの密殖と環境……………………………………………倉掛武雄（愛知水試）
3. カキの密殖の問題……………………………………………今井丈夫（東北大農）
4. 養魚池における魚の生理……………………………………川本信之（三重県大水）
5. 海水の交流と生産力…………………………………………速水頌一郎（京　大）

○5月理事会

1. **開 催 日**　昭和 34 年5月8日
2. **場　　所**　東京水産大学会議室
3. **出 席 者**　田内会長，久保編集長，理事 20 名
4. **会長及び編集長挨拶**
5. **議　　事**

a．学術会議の学会推薦候補者選出について

各支部に候補者の推薦を依頼し，学会でこれをとりまとめ，全会員に通知し投票結果により一般関係1名，化学関係1名を学会推薦候補者と決定することにした。立候補届出は7月 11 日より 25 日まで。

b．学会誌印刷部数増加の件

25 巻1号より 100 部増加して 1800 部にすることに決定した。

c．学会原稿用紙の定価改正について。

学会原稿用紙の定価を 70 円とし，郵送する場合は送料（24 円）その他として別に 30 円を徴集することとした。

d．雑誌交換について。

図書交換6件を決定した。

1．広島大学水畜産学部紀要
2．1月理事会決定による中国々立北京図書館との交換に当り，受入希望書目 12 点を決定申入れる。
3．M. E. Saltykov-Shchedrin State Public Library（レニングラード），受入希望書目として Zoologiceskii Zhurnal（モスクワ），Voproskii Ichtiologii（モスクワ）の2点を申入れる（2-23）。
4．Marine Biological Laboratory, University of Copenhagen. 受入書目は未定（3-27）。
5．Editions Maritimes（パリ），受入書目は La Pêche Maritime（4-8）.
6．学会誌欠号補充のため3機関に対し再寄贈を了承（1-23/5-8）。

e．海外通常会員，団体会員入会規定および海外購売会員会費改定，2件の立案を了承。

f．会長宛 Dr. W. F. Thompson の書簡，および編集長宛 Dr. G. L. Kesteven の書簡を発表（1-26/3-11）。

g．第2回東京国際書籍展示会よりの展示勧誘は見送ることに決定。

h．投稿規定の一部改正について。

編集理事会の協議の結果投稿規定の一部が改正された（第 25 巻第1号，日本水産学会投稿規定参照）。

会　　告

Records of Oceanographic Works in Japan, Vol. 5, No. 2 の原稿募集について

このたび標記の件について学術会議同編集委員より原稿の募集がありました。論文の種類は海洋物理学，海洋地質学，海洋化学，海洋生物学，水産学等に関する欧文の学術論文で，論文1篇の長さは印刷6ページ，締切は6月 30 日（火）です。原稿執筆要項の詳細について知りたい方は学会事務局宛御申出下さい。

昭和34年度　日本水産学会秋期大会（予告）

昭和 34 年度日本水産学会秋期大会を次の通り開催します。

1. 期　　日　10 月中旬。

2. 場　　所　大阪。

2. 日　　程　第1日｝研究発表。
第2日｝
第3日　午前　シンポジュウム。
　　　　午後　見学。

4. 研究発表申込締切　昭和 34 年 8 月 15 日。

備考　開催に関する詳細は追つてお知らせします。

昭和三十四年五月二十日　印　刷
昭和三十四年五月二十五日　発　行

第二十五巻　第一号

本号定価 150 円
(送料別)

編集兼発行者　久保伊津男
東京都港区芝海岸通り6丁目　東京水産大学内

発行所　日本水産学会
東京都港区芝海岸通り6丁目　東京水産大学内
振替口座　東京　59529番
電話 (45) 2200番

印刷者　笠井康頼

印刷所　株式会社　国際文献印刷社

発売所　株式会社　国際文献印刷社
東京都新宿区山吹町184
電話 (34) 7446

鱗の輪紋の研究—II.
輪紋の形成*

安田秀明

(1958 年 12 月 2 日受理)

IMPLICATION OF THE SCALE RING—II.
RING FORMATION

Hideaki YASUDA**

For different kind of fish the time of scale ring formation is not uniquely determined according to the circumstance through which they have grown up; it varies usually with every species. Even with one species, moreover, peculiarities in geographic region where they live, their age and degree of maturation have influences upon the season in which the ring is shaped.

Out of an examination made for a number of different species of fish having just passed through a coldest season it was inferred that at most 35% of them had such a ring as situated closely to scale periphery, suggesting that ring formation in winter is rather a rare case.

The scale ring seems to be formed in general in an early period of generative maturation and/or in a spawning-time of the fish.

同一環境下の数魚種についての形成時期の比較

輪紋の成因を知るために環境条件を人為的につくつた飼育実験は多数にある。水温・餌量による鱗の生長率の結果は魚種や実験者によつてまちまちであつて，GRAHAM (1929) によつて批判的に研究された当時と大差はない。

著者[1]は先に環境条件がそれぞれ違う場合の 12 魚種について circuli 密度と成熟の程度とを対照して輪紋のあらわれる時期がそれぞれの成熟期・産卵期と密接な関係にあることを知つたが，田内先生の御指導によつて，限られた水域に自然に共存する数種の魚類について鱗に輪紋のあらわれる時期を同時に調査してこの関係を確めた。

こうした場合には水温・餌量などの環境条件はともに季節的に変化はするが，適水温や餌料の種類に大差のない魚種の間では，それらの影響はほぼ同様に受けるものとみなされるから，輪紋のあらわれる時期が魚種によつて違わなければ水温・餌量などの環境条件の影響を輪紋形成の主因とみなしてよかろう。しかし魚種によつて輪紋のあらわれる時期が違えば，水温・餌量などの環境条件は少なくとも主因としては考えられないことになる。

鱗に輪紋のあらわれる時期を知るには，最外側の輪紋が縁りにあらわれてから後の伸びの程度を月別に調べた。鱗の生長は同一魚種でも個体により年齢によつて異なる他に棲息するところによつても異なるから，鱗の伸びの程度はその伸び高に対する鱗長の比をとつて，これを体長別に表わすことが最も妥当であるが，ここでは次のようにした。輪紋が 2 つ以上あるものでは，縁りの最も近くの 2 つの輪紋の間隔，輪紋が 1 つだけのものでは，鱗の成長の核心から輪紋までの間の距離に対して，その伸び高が 1/3 までのものを (+)，

* 昭和 30 年 10 月長崎大会，昭和 31 年 10 月広島大会で発表した。
** 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish.).

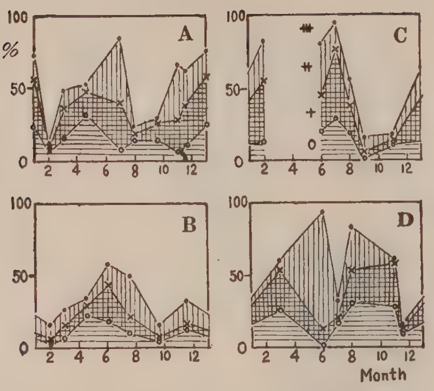


Fig. 1. The ratio (0, +, ⧺, ⧻) of relative growth from outside-ring on the scale. A. Ginbuna, B. Nagabuna, *Carassius carassius* (L.), C. Higai, *Sarcocheilichthys variegatus* (T. S.), D. Oikawa, *Zacco platypus* (T. S.

それから $^2/_3$ までを（⧺），$^2/_3$ 以上を（⧻），辺縁にあるものを (0) として4段階に分かつた。こうしたものの比率の移り変りによつて月月の鱗の縁りの移り変りをみることにした。

水深が浅くて富栄養湖である諏訪湖産魚類について長野県水産指導所に依頼して 1951 年9月から翌年の12月までの間に資料を集めたものによると (Fig. 1)，資料数がまちまちであるためにかなりちらばつてはいるが，全体の傾向からみて，月月に新しくあらわれる輪紋の割合はギンブナでは2月から5月までと7月から翌年の1月までの間いずれも次第に増している。ナガブナでは2月から増し5月を山として減少するが，11～12 月頃もいくらか大きい。ヒガイでは 3～5 月のところは不明であるが 6～9 月に減少し 11 月から翌年の2月にかけて増している。オイカワでは6月から増して9月を山にして減少するが1月から4月にかけて再び増大するものとみなされる。

要するに鱗の縁りの伸びの比率の月月の移り変りからみて，輪紋のあらわれる時期や輪紋のあらわれ方はほぼ同一の環境で生長した魚類の間でも魚種によつて違いのあることが知られた。

なお，諏訪湖の近くを流れる千曲川産オイカワについて中村[2] の研究したところによると，5 月に密帯，10 月に粗帯が形成されること，11 月頃から卵巣の増重が認められて5月頃から急に増大し 6～8 月に産卵することが知られている。1カ年間に形成される2つの輪紋は卵巣が増重し始める頃と産卵の直前とにそれぞれ対応しているものとみなせる。

形成時期の地域的相違

魚鱗の年輪も樹木の年輪のように冬季に形成するものが多いといわれてきた。かりに冬季に形成するものが多いとすれば，2～3 月の最低水温時を経過した直後に採つた鱗ではその縁りの近くに輪紋が見られるはずである。1951 年 4 月 15 日から 5 月 14 日までの1カ月間に本邦の沿岸及び内水面の 37 カ所に採鱗を依頼し，合計 1,345 尾，144 種について検鱗した。全資料について最外側の輪紋が縁りにあらわれてから後の伸びの程度を上述の4段階に分けてみると，輪紋のあらわれる時期は魚種により，マダイでは地域によつても違うことが知られた。

次に魚種の違いを区別せずに地域別に集計してみると (Table 1)，輪紋のあらわれる時期は太平洋側の北・中・南部と日本海側の中部とでは大差はないが，日本海側南部（東支那海を含む）のものだけは他のいずれの地域よりも早くあらわれている。そこで他のいずれの地域とも共通でない魚種といずれかと共通なものとに分けて比較してみる。共通でないものでも共通なものでも，ともに他の地域のものよりもいくらか早く輪紋があらわれていることが知られる。これはマイワシ・サンマ・マダイ・ヘダイ・キスなどの産卵期が南方では北方よりも一般に早いというような関係によるものであろう。

冬季にあらわれたと考えられる輪紋が全体の 35% であつて，とくに冬季に輪紋が多くあらわれたとはいえない。むしろ4月よりも後に輪紋を形成すると考えられるものが多数である。中村[3] の日本産魚類の産卵期表から魚種や地域の区別をせずに月別頻度数をしらべると，魚の産卵期は 4～6 月に全魚種の 50% に及ぶこと (Table 2) が知られてこれと密接な関係があるもののように思われる。

Table 1. Ratio of relative growth from outside-ring on the scale of fishes. (Apr. 15~May 14)

Locality (Species)		0	+	++	+++	Number of individuals
Pacific Coast	North part	9	22	46	23	202
	Middle part	9	28	33	30	271
	South part	6	23	40	30	391
Japan Sea Coast	Middle part	4	18	54	24	183
	South part	14	37	40	9	297
Total		9	26	41	24	1345
Japan Sea Coast South part	(independent 21)	8	48	31	12	119
	(common 25)	17	30	45	8	178
The other part (123)		7	23	42	28	1048

Table 2. Frequency of spawning time (218 species)

Month	Jan.	Feb.	Mar.	Apr.	May	Jun.	Jul.	Aug.	Sept.	Oct.	Nov.	Dec.
%	4	5	9	14	17	17	11	8	5	4	4	3

From Nakamura's Table of Spawning times on the Japanese fishes'.

同一魚種について諸要因の比較

ワカサギについて鱗の生長率・circuli 間隔・卵径・水温・相対摂餌量の月月の変化を比較して輪紋の生因を吟味する。

雨宮・檜山[4] の研究によつて，ワカサギ（山中湖産）の鱗には 9 月頃と 2~3 月頃とに 2 つの輪紋があらわれ，2~3 月に形成されるものは circuli が密からとつぜん粗に変るところにあらわれるもので特に明瞭であつて，産卵記号ともよばれている。9 月頃にあらわれるものは粗から密に移るところにあるもので前者ほど明瞭ではないことが知られている。両氏の論文第 1 表から，鱗の最外側にある輪紋と縁りとの間隔（$R-R_{1+2}$）と鱗長（$R+l/_2$）との比を求めたものと，circuli の平均間隔（R_n/C_n, R_b/C_b）とを求めたものの季節的変化を Fig. 2 A・B に，柳本[5] の測定によるワカサギの卵径の季節的変化（霞浦産）と諏訪湖の表面水温の周年変化とをそれぞれ Fig. 2 C・D に示した。

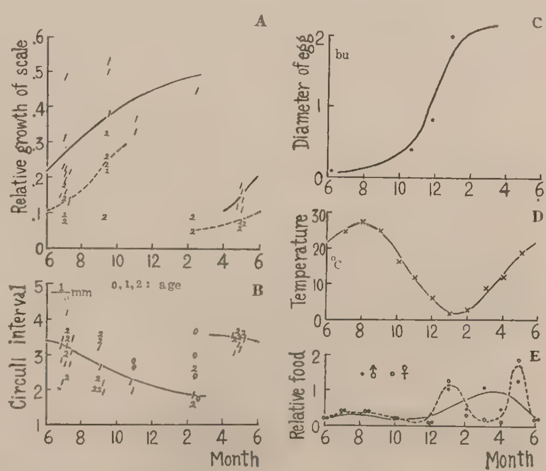


Fig. 2. On the Some factors affecting the formation of ring on scale.
A, B: Amamiya・Hiyama, C: Yanagimoto, D: Nagano Fishing Guidence, E: Okada

岡田[6] は諏訪湖産のワカサギについて，相対摂餌量（胃の内容物の重量と胃袋の重量の比）を研究され (Fig. 2 E)，雄では 1~5 月に特に多く，雌では産卵期の 2~4 月の間では特に少くて，その前後に多いがその他の時期では雌雄ともに余り多くはな

いことが知られている。

産卵後の雌の摂餌量が特に雄よりも多くなつていることは体力の恢復により多くの栄養を要するためとせられた。

水温が上昇して鱗の伸び方が増すにしたがつて circuli 間隔は減りはじめ，水温が下降し初める頃から鱗の生長率も減り初めて 2〜3 月頃最もおとろえるが，circuli 間隔はそのまま減少する。すなわち鱗の伸びが少い割に circuli 数だけは増すことになる。3 月頃鱗の生長が再び増大し初めるに先だつて急に circuli 間隔が増大してここに輪紋を形成する。すなわち鱗の生長率が最も小さくて 1 カ月当りの伸び高に大差のない 12 月から翌年の 4 月頃までの間の前期では circuli は密であるが後期では粗になる。したがつて circuli が一定期間毎に形成されるとみることも，鱗の生長の一定値に対応するとみることもできない。

この間水温は前半に於て最低に達し，後半ではすでに上昇に移つている。水温の変化は鱗の生長したがつて魚体の生長とも密接な関係にあり，湖水の深い所では浅い所に比べて水温の最高・最低時が 1 カ月位遅れることも事実である。しかし水温最低時の生長の影響が circuli 密度の変化に関与したと考えるには，寺田[7]が指摘しているように水温の週期的曲線は余り連続的であり平滑的である。これに反して卵は 11 月頃から急に増大して翌年の 2〜4 月に放出される。circuli 密度は 4 月から翌年の 2 月頃までは次第に減少するが 2〜4 月頃急に増大する。卵の成熟の状態と鱗の circuli 密度の変化とは，ともに不連続的であると同時に前者ほど平滑的ではなくて，最も密接な関係にあることが知られる。

餌量の影響とくに魚体の栄養状態が間接的ではあるが輪紋の形成に主要な関係をもつことは，フナについて第 1 年輪があらわれた時の鱗長が小さいもの，つまりその年の生長が悪かつたものほど年輪の両側における circuli 密度の差が著しく大きくなつて明瞭な輪紋があらわれたこと[8]，貧栄養下で長期間飼育したフナに輪紋があらわれなくなること[9]から見ても明らかである。貧栄養下での飼育実験中世代の交替がおこり栄養も有利になつた頃から再び輪紋を形成する個体のあらわれたことは，輪紋の形成が成熟・産卵に伴う生理現象と最も直接的な関係にあることを示すものと考えられる。

形成の時期と年齢・成熟

輪紋のあらわれる時期が同一の魚種でも年齢により魚体の大小によつて違うこと[1,10,11]は既に述べたが，魚体の大小による違いはむしろ成熟の遅速によるもののようである。マイワシの鱗の輪紋は主として 7〜10 月に形成するものと 11 月から翌年の 5 月までに形成するものがあるといわれている。年齢及び生長に関するシンポジウム[12]で取扱われた報文について吟味したところでは，7〜10 月に形成する輪紋はとくに当才魚に限られていることを知つた。当才魚で 7〜10 月に輪紋を形成するものは比較的に生長のよいものだけであつたが，橘高[13]の研究によつて夏季の生長が不良であつた与謝内海の当才マイワシも生長が良好になり始めた 11 月頃（体長 9〜10 cm）に至つて輪紋を形成することが明らかにされた。7〜10 月に 11〜13 cm 位までに生長した当才魚は孵化後半カ年目頃に第 1 輪紋を形成し，孵化した年の夏季までの生長が不良であつたものは 11 月以降翌年の 5 月頃したがつておよそ孵化後 1 カ年目頃に第 1 輪紋を形成することになる。それ以後は毎年冬に 1 輪づつを加えることになるので第 2 輪紋以上では生理年齢と天文年齢とは一致する。

橘高氏もいつているように単に体長の大きさだけで輪紋形成の遅速がきまらないことは成熟し始めるというような生理的現象と密接な関係にあることを証するものである。成魚では 6〜8 月頃から卵径が増大し当才魚でも 9〜12 月に生殖腺が肥大し始めること[14]が知られているので，生長が良好な当才魚に 7〜10 月頃に形成される輪紋は成熟に伴う生理的変化に起因し，夏季での生長が不良であつたものや遅く孵化したもの及び 2 才魚以上のものでは産卵に伴う生理的変化に起因して輪紋が形成されたものとみられる。

輪紋形成の機構についての考察

成熟・産卵を抑制すれば年輪の不形成現象がおこるのではなかろうかと考えられたので貧栄養下での長期間の飼育実施をおこなつた。その結果は先に報告[9]したとおりである。

生長に伴う餌料の性質の変化(アユ)[10]，稚魚期から洄游し始めることによる環境の変化（マイワシ体長4,7cm)[11]，環境に馴化するための生理的変化（マイワシ)[13]などに対応してあらわれたと考えられる所謂二次的輪紋以外のすべての輪紋所謂年輪は成熟・産卵の生理的変化に関与して形成され，魚種により魚体の生理的状態によつて，成熟初期なり産卵終期なりの何れか一方の時期だけに輪紋があらわれるものもあり，両者ともにあらわれるものもあつて，年輪の他の一方はそれぞれ成熟記号なり産卵記号の輪紋となる。

年輪の形成機構については先にアユの鱗について考察した場合と同様，何れの魚種についても成熟なり産卵なりの生理的変化に伴つて鱗の生長に必要な成分の組成が変化することに基くものと考えられる。耳石については既に透明層と不透明層とで組成に差のあること[15]が知られている。

成熟年齢の高い未成魚の場合にも成魚とほぼ同じ頃に同じような年輪を形成することが多数の魚種について知られているが，畑中・関野・大塚の研究によつてイシガレイの未成魚がそれの産卵期に生殖腺が一時的に肥大した後に縮小すること[16]が明らかにされているので，こういう関係が何れの魚種についてもおこるものとすれば，成魚・未成魚ともに上述のような機構によつて年輪を形成するものと考えてよい。

鱗の生長が自己増大であるか沈着であるかに拘わらず，魚体の成熟・産卵に伴う生理的変化によつて魚体から分泌される物質の組成に1カ年の周期性があり，これに対応して析出と沈着とが行なわれる結果年輪を形成するものとすれば，年輪の形成にも1カ年の周期性があることになる。

御指導を賜つた田内森三郎先生と採鱗に御協力を賜つた太平洋側（北部）厚岸・浅沼・八戸・気仙沼・渡波・仙台・銚子，（中部）館山・西岬・相模湖・大野・三谷・浜島・尾鷲・田辺，（南部）多度津・西条・宇和島・土土呂，日本海側（中部）能生・有磯・宮津・醒井，（南部）岩木・浦郷・仙崎・天草各地方の諸氏と下川秀雄・小池篤・古川優の諸氏に感謝する。

文　　献

1) 安田秀明：魚類の鱗耳石脊椎骨に顕われる輪紋の生成に関与する要因の批判的研究．本誌 **10** (1), 1941.

2) 中村一雄：千曲川産オイカワの生活史並びにその漁業．淡水区水研報 **1** (1), 1952.

3) 中村秀也：日本産魚類の産卵期表．水産研究誌 **30** (5), 1935.

4) 雨宮育作・檜山義夫：公魚の産卵及び年齢に就きて．水産学会報 **8** (1), 1940.

5) 柳本斗夫：公魚の年齢に就て．水産研究誌 **9** (3), 1914.

6) 岡田彌一郎：魚類の生産に関する研究．水産研究会報 (**2**), 1949.

7) 寺田寅彦：自然界の縞模様．科学 **3** (2), 1933.

8) 安田秀明：鯉の鱗についての一，二の知見．本誌 **10** (5), 1942.

9) ——：鱗の輪紋の研究—**1**. 輪紋の不形成現象．本誌 **24** (8), 1958.

10) ——：当年アユの鱗に顕われた2つの輪紋についての考察．本誌 **9** (5), 1941.

11) ・小倉通男：日本産主要魚類の成長—**I**. マイワシ．本誌 **16** (6), 1950.

12) 水産庁調査研究第一課：生物調査報告 (**2**), 1955.

13) 橘高次郎：イワシ増産に関する研究—**2**. イワシの生長と鱗相について．謄写，1953.

14) 村上子郎・早野孝教：昭和27年度イワシ資源協同研究経過報告．1955.

15) 入江隆明：魚類耳石の形成発達機構について—**2**. 本誌 **19** (9), 雑録，1954.

16) 畑中正吉・関野清成・大塚　章：仙台湾底棲魚類の資源学的研究—**II**. イシガレイの年齢成長産卵について．京都大会研究発表，1951.

藻類の栄養代謝に関する研究—II.

マクリの生育に対するアミノ酸及びビタミン類の効果

柏田研一・柿本大壱・金沢昭夫

(1959 年 2 月 25 日受理)

STUDIES ON THE METABOLISM OF ALGAE—II. THE EFFECTS OF AMINO ACIDS, VITAMINS AND PYLORIC COECA EXTRACT ON THE GROWTH OF *DIGENEA SIMPLEX*

Ken'ichi KASHIWADA, Daiichi KAKIMOTO
and Akio KANAZAWA*

In the previous paper[1)] we dealt with the effectiveness of amino acids, vitamins and pyloric coeca extract of skipjack on the growth of *Porphyra tenera*. Successively we studied on the same subject through the culture of *Digenea simplex*. The results are summarized in Table 1. In these studies it was found that the growth of *Digenea* was improved by addition of casein hydrolysate, vitamin mixture and pyloric coeca extract of skipjack as in the case of *Porphyra*. The addition of vitamin B_{12} allowed a considerable growth of *Digenea* when added in much smaller quantity, about 0.002–0.02γ per litre of sea water. The further addition of vitamin B_{12} was without apparent effect.

筆者らはさきにアサクサノリの生育に対するアミノ酸，ビタミン類の効果を試験し，カゼイン水解物，ビタミン類，カツオ幽門垂エキスがそれぞれ適当の添加量においてアサクサノリの生育を顕著に促進すること，ビタミンの中では特に B_{12} の効果が著しいことを認め，第1報[1)]として報告した。これらの物質が他の藻類に対しても生長促進の作用を示すかどうかを確かめるため，産業的の意味も考慮してアサクサノリと共に利用上重要なマクリについて実験したところ，相似た結果が得られたので報告する。

実 験 の 部

1. 培養液　本学部前から汲みとつた海水を No. 2 東洋沪紙で沪過したものを基本培養液としたが，その中のビタミン B_{12} を除くため，浅いバットに約 2cm の深さに上記海水を入れ約 30cm の距離からこれに 15W マツダ殺菌灯を1時間照射した。特に確かめることはしなかつたが，これによつてある程度の殺菌も行なわれたものと思われる。なお基本培養液（海水）には N, P その他の無機栄養源は添加しなかつた。

2. 供試マクリ　鹿児島湾に臨む垂水市地先で採取したものを直ちに本学部に持ち帰り，大きさ色調などほぼ等しく，且つ外見上健全体と認められるものを選別して供試料とした。

3. 培養方法　前記の培養海水 5*l* を直径 25cm，深さ 15cm のガラス鉢に入れ，その中に供試マクリ2個体を懸垂し，この鉢を木槽中に並べ培養液の昇温と温度の変動を防ぐため鉢の周辺に絶えず水道水を流しつつ培養した。なお培養液にはオーレオマイシン 1ppm を添加して細菌類の繁殖を抑制し，攪拌器によつて培養液を攪拌したが，空気や CO_2 は導入せず1週間の培養期間中1日おきに換水した。培養は昭和33年8月8日から 15 日までと，同 29 日から9月5日までの各1週間宛2回行なつたが，この期間中水温は 22° 前後を保つた。部屋は北側で，培養槽の直上約 30cm の距離から 40W 白色螢光灯で照明した。

4. 生長率の表示　アサクサノリの場合は面積増加率を以て結果を表示したが，マクリではこの方法は

* 鹿児島大学水産学部 (Fac. Fish., Kagoshima Univ.)

用いられないので，これに代る方法として容積増加率を以て生長率を表示することとした。即ち供試マクリを海水から取上げ，水切りした後濾紙間に挟み藻体を傷つけないよう軽く圧搾して附着海水を吸い取り，全藻体を浸漬するに足る量の海水を入れた 50cc メスシリンダーに入れ，浸漬の前後におけるシリンダー内の水の水位を読み取り，その差を以て藻体容積とした。この操作はできるだけ手早く行なつた。以上の方法により培養の前後に藻体容積を測定し，1 週間の培養による容積増加を，培養前の藻体容積に対するパーセントで算出して生長率とした。

5. 試験事項と結果の考察　前記の方法によりアミノ酸混合物，ビタミン類，カツオ幽門垂エキスのマクリ生育に及ぼす効果についてアサクサノリの場合に準じて実験した。

先ずアミノ酸混合物としては第 1 報と同様，蛋白質完全水解の常法によりカゼインを塩酸で水解した後，減圧濃縮を反覆して塩酸を除去後カセイソーダで中和し，活性炭で処理 (pH 3.5) してビタミン類を除去したものを用いた。使用量は海水 $1l$ に対し 10mg カゼイン相当量としたが，水解による分解を顧慮して DL-アラニン，L-シスチン，DL-トリプトファン各々 0.4mg を補足した。またビタミン類としては海水 $1l$ に対し，チアミン，コリン，リボフラビン，ピリドキシン，PABA，イノシット，パントテン酸，ニコチン酸各 10γ，葉酸 0.2γ，ビオチン，ビタミン B_{12} それぞれ 0.02γ を混合使用した。カツオ幽門垂エキスは同じく海水 $1l$ に対し粗蛋白として 10mg 相当量を用いた。なおビタミン B_{12} についてはその添加量を 3 通りに変えて実験した。培養試験の結果は Table 1 の如くであつた。

Table 1. Growth of *Digenea simplex* after 7 days in sea water containing amino acids, vitamins and pyloric coeca extract of skipjack.

Experiment No.	Substances added per litre of vitamin B_{12} free sea water	Volume of the algae (ml)		Rate of growth	
		Initial (A)	After 7 days (B)	$\frac{B-A}{A}\times 100$	Average
1. Aug. 8〜15 (1958)	Amino acid mix*, 1 ml.	5.6 5.1	6.9 6.3	23.2 23.5	23.4
	Vitamin mix**, 1 ml.	3.0 5.2	4.0 7.1	33.3 36.5	34.9
	Pyloric coeca ex. of skipjack***, 1g.	3.8 5.5	4.5 6.5	18.4 18.2	18.3
	Vitamin B_{12}, 0.002γ	5.9 5.0	7.4 6.1	25.4 22.0	23.7
	〃 0.02γ	3.3 4.3	4.0 5.2	21.2 20.9	21.1
	〃 0.2γ	4.5 5.2	5.0 5.7	11.1 9.6	10.4
	No addition (Control)	4.3 5.7	4.5 5.9	4.7 3.5	4.1
2. Aug. 29〜Sept. 5 (1958)	Amino acid mix*, 1 ml.	4.8 5.6	5.9 7.0	22.9 25.0	24.0
	Vitamin mix**, 1 ml.	4.0 6.8	5.5 9.5	37.5 39.7	38.6
	Pyloric coeca ex. of skipjack***, 1g.	4.0 4.9	4.7 5.9	17.5 20.4	19.0
	Vitamin B_{12}, 0.002γ	3.9 4.4	4.8 5.3	23.1 20.5	21.8
	〃 0.02γ	3.5 3.7	4.2 4.5	20.0 21.6	20.8
	〃 0.2γ	5.0 3.8	5.6 4.3	12.0 13.1	12.6
	No addition (Control)	3.2 5.5	3.3 5.8	3.1 5.5	4.3

* 1 ml. of amino acid mix contains: casein (10mg) hydrolysate (treated with activated charcoal at pH 3.5), DL-alanine, L-cystine and DL-tryptophan, 0.4mg respectively.

** 1 ml. of vitamin mix contains: thiamine, choline, riboflavine, pyridoxine, PABA, inositol, niacine, Ca-pantothenate, 10γ respectively, folic acid 0.2γ, biotin and vitamin B_{12}, 0.02γ respectively.

*** 1g. of pyloric coeca ex. of skipjack contains 10mg of crude protein.

Water temperature: About 22°C.

何等の物質も補足しない天然海水中に培養したもの（対照区）は1週間で約4%の容積増加（以下生長率と呼ぶ）しか示さなかつたのに対し同じ海水に上記の物質を添加して培養したものはその数倍，約12～37%の生長率を示し，明らかな生長促進効果が認められた。幽門垂エキス中にはアミノ酸類が多く含まれているので，カゼイン水解物とはこの点でマクリの生育に対する両者の作用に共通性があつたと思われるが，アミノ酸混合物とビタミン混合物とは全く異なる物質であるので，マクリに対する生理的作用においても異なるものがあつたに相違ないと考えられるにも拘らず，両者共にマクリの生育を促進している点においてその効果は共通している。この3種の添加物のマクリ生育に対し示された効果が如何なる機構によるものであつたかは不明であるが，これはアサクサノリについて行なつた第1報の実験でも等しく認められた所であつた。なおこの実験ではアミノ酸，ビタミン共に混合物を使用したので，何れが有効であつたか，また各添加物の最適量も不明であるが，これらの点を確かめるための実験は計画している。

ただビタミン B_{12} は，このビタミンと海洋生産力との関連性について目下研究を進めつつある関係上，使用量を変えた場合について実験した。表に示されたように実験した範囲では使用量の最も少ない $2m\gamma/l$ が最も有効で，その10倍及び100倍，殊に後者の場合には使用の効果がかなり落ちた。この原因は明らかでないが海藻自体に対するビタミン過剰の害なる現象の現われか，それとも他の原因，例えば藻体と共存する細菌類の生理と関係ある間接的原因に由来するものか，将来における興味ある研究問題となるのではないかと考えている。次に諸種のビタミン類を混用したものはその中に B_{12} $0.02\gamma/l$ を含んでいるが，B_{12} をこれと等量単用したものと生長率を較べると，前者の方が明らかに勝れているので，ここに混用したビタミン類の中には B_{12} 以外にも本実験に用いた添加量でマクリの生育上有効に作用したもののあつたことが推測される。それがどのビタミンであつたかも今後の実験によつて確かめる予定である。

摘　　要

マクリの生育に対するアミノ酸，ビタミンその他の効果を1週間の培養試験によつて調べ次の結果を得た。

1)　アミノ酸混合物（カゼイン水解物に数種のアミノ酸を補足したもの）を添加した海水中におけるマクリの生育は対照区のそれを遙かに凌駕し，約6倍の生長率を示した。

2)　チアミンなど11種のビタミン類を添加したものは更に勝れ，対照区の約9倍の生長率を示した。

3)　カツオ幽門垂エキスの添加も有効で，対照区の約4.5倍の生長率であつた。

4)　ビタミン B_{12} の添加もマクリの生長に対し促進的効果を示し，海水に対し $2m\gamma/l$ の添加量で対照区の約6倍の生長率を示した。なお原因は明らかでないが，その100倍濃度では寧ろやや効果が落ちた。

試料として用いたマクリの入手については本学部田中剛教授，野沢洽治講師並びに本県垂水市漁業組合の御配慮と御好意に負う所が多く，更に本研究に要した経費は一部昭和33年度農林漁業試験研究費補助金を充てた。また実験に当つては本学部製造科学生金高勇三郎君の協力を得た。附記して関係当局及び上記の各位に対し深甚の謝意を表する。

文　　献

1)　金沢昭夫・柏田研一：鹿児島大学水産学部紀要 7，187～191 (1959).

トロール網漁業と二艘曳機船底曳網漁業の網成りによる漁獲性能の考察

葉　室　親　正

(1959 年 3 月 24 日受理)

A STUDY ON THE FISHING EFFICIENCY OF THE OTTER TRAWL AND THE TWO-BOAT TRAWL IN OPERATION BY THE SHAPE OF THEIR NET

Chikamasa HAMURO*

In this study, we have measured the shape of the net under operation for the otter trawl and for the two-boat trawl, by means of several precise devices; namely net-height self-recorder, net-against-water speed meter, and self-recording tension meter for head or ground rope and warp. And then, the comparison was made for the fishing efficiencies of both nets (Table 5, Fig. 10).

The results of measurement on net shape show that the otter trawl net was operated in violent state because it is towed speedy, and in the other hand, the two-boat trawl net natural and reasonable by means of slow towing (Fig. 6, Table 3, Fig. 7).

ま　え　が　き

両網漁具の曳網中における実態を知ることは，それらの漁獲性能を高めるために必要である。また現行の網についての網成りの実際と漁獲量に現われた漁獲性能との関係を考察することも，両網の漁具漁法を改善するために大切な方法であろう。この意味から筆者は今までに試作，実験した諸種の測定器（網口高さ計，G.R. 展開計，G.R. 及び H.R. 用張力計，曳索張力計，網速度計，深さ計）によつて得られた記録によつて両漁具の水平面的，側面的形状及び各種の動態の変化を調べて考察を試みた。

1. 曳網中の全漁具の水平面的，側面的形状について

(a) トロール網　全漁具の水平面的，側面的形状の1例を Fig. 1 に示す。曳索は船尾から Otter board までは殆ど直線で結ばれている[1]。したがつて船の前進速度の遅速（船首での波浪衝撃による）がそのまま

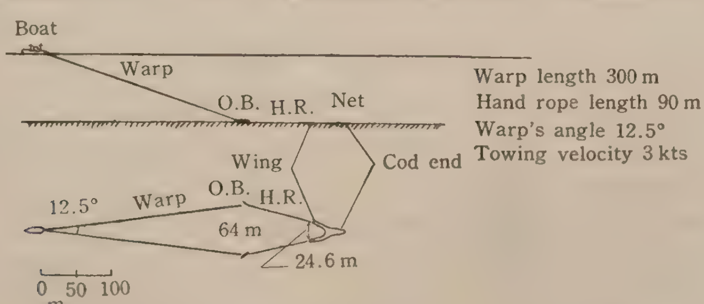


Fig. 1. Plane and side view of the otter trawl net in operation.

* 水産庁生産部漁船研究室 (Fish. Boat Lab., Production Div., Fish. Agency).

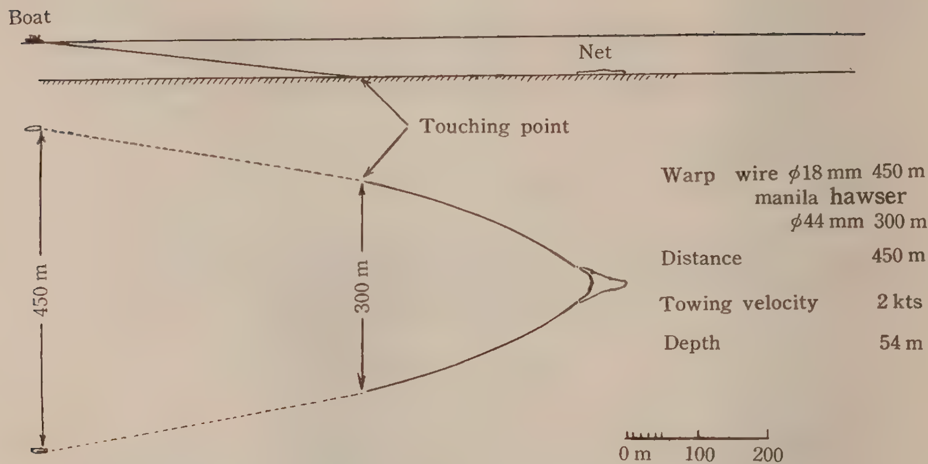


Fig. 2. Plane and side view of the two-boat trawl net in operation.

Otter board 及び網に伝わるので，網口の上下動が二艘曳機船底曳網より甚しい。

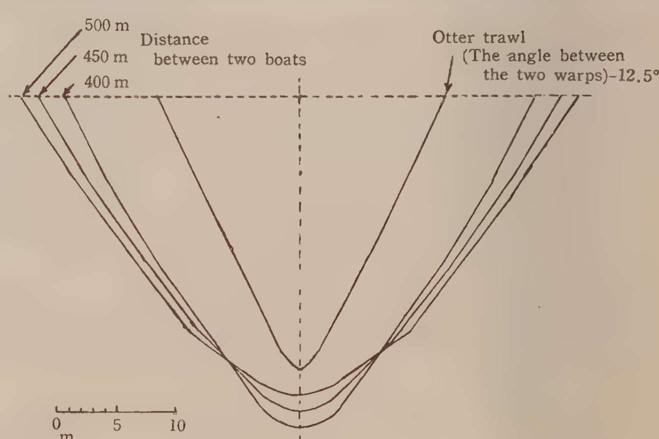
(b) 二艘曳機船底曳網　全漁具の水平面的，側面的形状の 1 例を Fig. 2 に示す。曳索は曳船側からほぼ全長の 50～60% 附近で接地しており，曳船の前進速度の遅速（船首尾での波浪衝撃による）及び上下動揺は大部分接地点の移動によつて吸収され網に直接影響を及ぼさない。この点は前者と著しく異なる点である。

またトロール網の場合の接地点 (Otter board) 間隔及び袖端間隔と二艘曳網の場合のそれらと較べて，後者が共に遙かに大であることは注目に価する点である。

2. 網成り

(a) 水平面的網成り　まず，水平面的網成りを論ずるには，その基本となる Ground rope の形状を知る必要がある。トール網は Otter board によつて，二艘曳網は二艘の曳船間隔によつて展開される。

Fig. 3 はトロール網と二艘曳網の Ground rope の展開状況の各々の例を示したものである。



Two-boat trawl	
Warp length	750 m
Towing speed	2 kts
Depth	54 m
The total length of the G. R.	73.93 m
The kind of the sea bed	F. S.

The otter trawl	
Warp length	300 m
Towing speed	3 kts
Depth	95 m
The total length of the G. R.	53 m
The angle between the two warps	12.5°
The total length of the H. R.	90 m

Fig. 3. Curve of ground rope in operation.

Table 1 は Fig. 3 から求めた Ground rope の主要間隔である。

Table 1.

Item / Kind of net	The angle between the two warps. Distance between two boats	Wing-Spread of net	Span of middle part of ground rope, 6m. long	Dip of ground rope
The otter trawl net	12.5°	24.6 m	3.3 m	23 m
The two-boat trawl net	400 m	41.1 〃	5.1 〃	29.3 〃
	450 〃	45.6 〃	5.4 〃	27.8 〃
	500 〃	48.6 〃	5.5 〃	26.3 〃

(b) 側面的網成り　　曳網中の網高さは次の部位で代表される。すなわち，袖先，網口脇，網口中央及び身網の傾斜である。通例各部網高さは曳網中の網の対水速度の増大につれて低下する。従来のトロール網と二艘曳網の網高さは若干後者が高いことが測定された。前者が 1.8m 前後，後者が 2m 強であつた。この場合曳網速度は前者が 3〜3.6kt，後者が 1.7〜2.5kt であつた。しかし，従来の球形硝子浮子の他に流体抵抗を利用した翼型フロートを使用することと，網地の抵抗を利用して上網に揚力を生じさせるような細目の目合を持つ網地を，適正に配置した構造の網によつて始めて Fig. 4, Table 2 に示すような網高さが得られるようになつた。

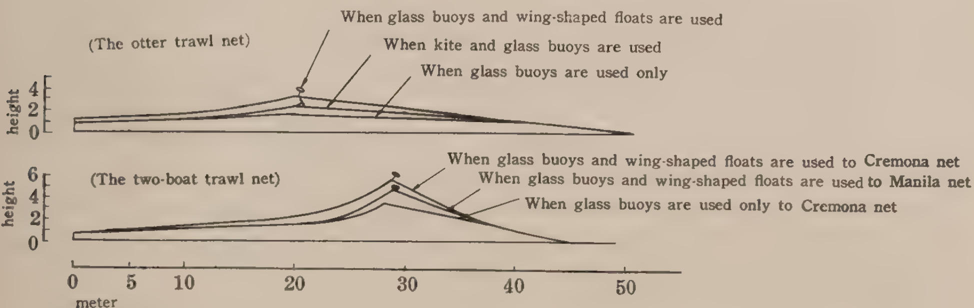


Fig. 4. Side view of the otter trawl net and the two-boat trawl net in operation.

Table 2. Height of the otter trawl net and the two-boat trawl net in their operation.

Item / Kind of the net	The height of the wing	The height of the middle point of the head line of the ceiling point	The height on the side point of the head line of the ceiling part	Towing speed	The kind of the buoys
The otter trawl	1.2 m	2.93 m	2.15 m	3.7 kts	Glass buoys and wing shaped floats
	0.7 〃	2.00 〃	1.80 〃		Glass buoys and a kite
	0.7 〃	1.50 〃	1.40 〃		Glass buoys
The two-boat trawl	0.8 〃	5.70 〃	3.05 〃	1.7 〃	Glass buoys and wing shaped floats (Cremona net)
	0.7 〃	4.85 〃	2.80 〃	1.9 〃	〃 (Manila net)
	0.7 〃	3.60 〃	2.45 〃	2.4 〃	Glass buoys (Cremona net)

(c) 網口の動態　　網口は魚が最初に通過する門戸であるから，単に高さだけでなく，その動態いかんが魚族の入網に影響を及ぼすであろう。Fig. 5 はトロール網と二艘曳網の網口の動態の1例を示す。

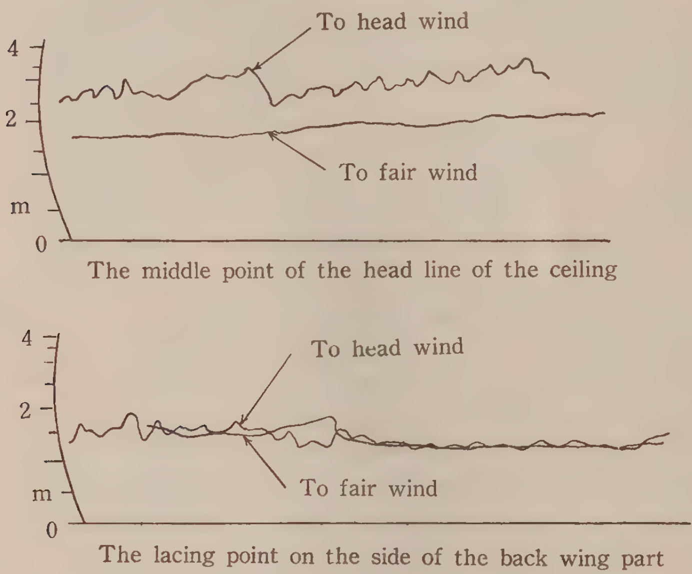


Fig. 5. Records of the height of net in operation to head and fair wind.

トロールの場合，船首側から風浪を受けて曳網すると網高さの変動が甚しい。これは前述のように波浪衝撃のため曳網前進速度に遅速が生じ，その遅速がそのまま Otter board の前進の遅速となり，網も Hand rope を通じて遅速のある前進をする。この速度の変化が網高さの変動となつて現われるのであろう。船尾側から風浪を受ける場合は網高さの変動が少ない。

二艘曳網の場合は普通船尾側から風浪を受けて曳網するが，船首側から風浪を受けて曳網する場合も，トロール網にみられるような網高さの変動はみられない。これは曳網中の曳索形状 (Fig. 2) に示したように，曳索が接地部附近でなだらかに彎曲しているので，緩衝作用が働いて，曳船の前進速度の遅速がほとんど曳索側面形状の変形に置換されて網まで直接響かないためであろう。

トロール網の場合，送風曳網時は順風曳網時に較べて漁獲性能が悪い。特にタイショウエビを対象とした場合その低下が目立つている。

逆風，順風曳網時の平均網高さは前者が高く，後者は低い。

Table 3, Fig. 6 は風向と船首方位と網高さの変動関係を示した。

Table 3. Property of the height of trawl net entrance in operation to fair wind and to head wind.

Item	To fair wind	To head wind
Height of net entrance	Low	High
Change of the height of net entrance	Nothing or little	Much
Speed of the net against water and land	Fast and smooth	Slow and irregular
Condition of the movement of the net height	Regular	Irregular
Mean catches	17 cases	6 cases

N. B. 1 case　　26 kg

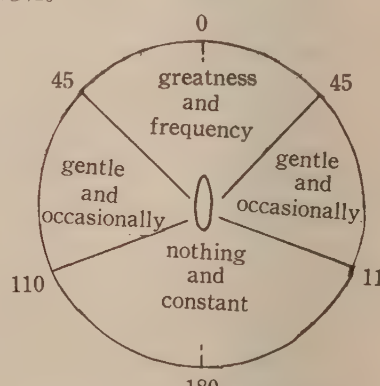


Fig. 6. Relation among the ship's head, the direction of the wind and the dinamic motion of the net height in operation.

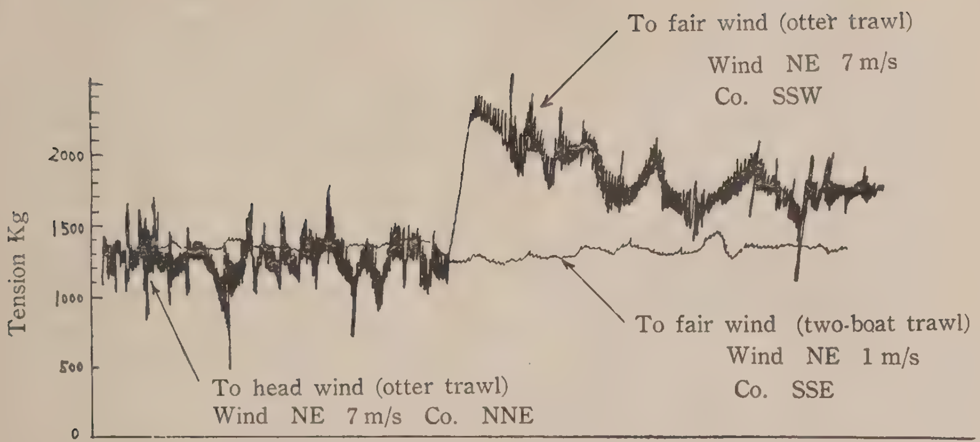


Fig. 7. Records of the tension of the otter trawl and the two-boat trawl net in operation to head and fair wind.

トロール網漁船は装備機関の馬力が大きいので，風向のいかんにかかわらず曳網方位を選定出来るのに対して，二艘曳の大部分は風浪を船尾から受けて曳網せざるを得ない。したがつて前者は魚族の集約点を追つて能率的に曳網針路を選定できるが，後者はある限度まで曳網した後は目的魚族の集約点を再び船尾から風浪を受けて曳網できる点まで航走しなければならない不便がある。しかしトロールは逆にこの非能率な逆風曳網を安易に行い，漁獲性能を低下させることも多い。

(d) 漁具の抵抗　　船尾での1本の曳索にかかる張力はトロールの場合普通 2000 kg 弱，二艘曳の場合 1600 kg 前後である。網漁具だけの抵抗は前者が 1300～2000 kg，後者が 1300～1400 kg 程度である（片袖先での張力測定値）。

Fig. 7 は両網漁具の抵抗の特性を示したものである。トロール網と二艘曳網とでは顕著な差が認められる。

前者は抵抗の変動が大で (500 kg) 前後あるのに対して，後者は数 kg 程度で，時々数百 kg の変動が起つている。トロール網の抵抗に，このような大変動が起るのは前述の理由によるが，その変動の内容は次のようであると考えられる。すなわち，小周期の変動は1分間に 10 回前後起つている。これは曳船と波浪との出合周期と一致している。また大きな周期の変動は Otter board が接地抵抗のため外方への展開をある時間つづけ，それがある限度にくると急に[illegible] warp 及び Hand rope の抗力に負けて，内側に狭ばまる。この運動が5分間に1回の周期で起つている。

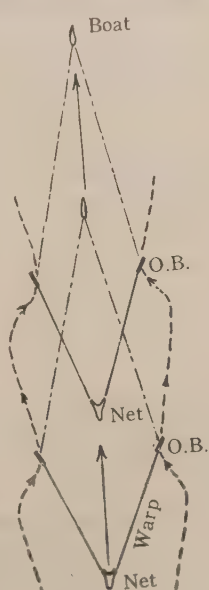


Fig. 8. Showing the movement of the otter boards in operation.

Fig. 8 はこの運動状況を示したものである。Otter board の不規則な動きは網成りにも可成りの影響を及ぼすであろうし，また漁獲性能にも悪い作用となるであろう。一方二艘曳網の場合は海底の泥土に埋まつて斜行する接地曳索のために，その網の形状が若干ふくらんだり痩せたりしながら進んでいるのであろう。しかし，二艘曳は割合に自然な状態で曳網されている。

(e) 網中の流速について　網は元来流体抵抗によつてふくらみ，網成りを保たせるのが自然であつて，浮子その他はその補助的（この場合網口を高くする力の割合をいうのではない）なものと考えるべきであろう。しかしこのために網中での流速が甚しく低下することは魚の入網を妨げる*[2)]と思われる。Fig. 9 にトロール網と二艘曳網との網と網内外の水との相対速度差を示した。図中の二艘曳改良網は，上網に揚力を生じさせるような細目の網地を用い，胁網は極力抵抗を抜くような広目の目合の網地を使用したものである。このことにより胁網の彎曲度合を小さくして網高さを増し，しかも網中の水の通りを良好にした。

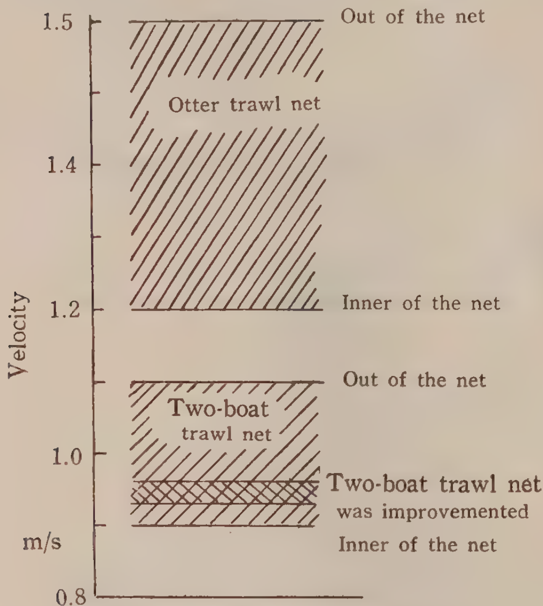


Fig. 9. Diagram of relative speed of the net and water in operation.

トロール網では網内外の速度差が 0.4m/sec もあるのに対して，二艘曳網では 0.2m/sec，その改良網では 0.03m/sec となつている。これは網の構成が根本的に異なつているためと，曳網速度の大小とによるためで，前者は速い速度で強引に魚を入網させている漁具といえる。後者は極く自然に魚を入網させているといえ，前者より後者の方が漁具として理想的であると考えられる。

(f) 1　曳網間の掃海容積　両網の多くの網高さ測定値から求めた平均の網高さで，曳網中の網の進行方向の射影面積を求めると，トロール網では 1.5m × 10.6m × 2+3m × 3.3m（袖部分の平均高さ × 射影長 × 2 + 網口部の平均高さ × 射影長）≒ 42 m², 二艘曳網では 1.5m × 18m × 2+3.5m × 5m ≒ 72 m² となる。

両網の射影面積は二艘曳の方が遙かに大である。Table 4 は両網の 1 時間及び 1 曳網間の掃海容積を示したものである。

Table 4. The sweeping capacity of the nets per an hour or an operation.

	The sweeping capacity of the net per an hour	The sweeping capacity of the net per a operation	Towing period	Towing speed
The otter trawl	257,040 m³	771,120 m³	3 hours	3.3 kts
The two-boat trawl	308,880 m³	463,320 m³	1.5 〃	2.3 〃

3. トロール網と二艘曳機船底曳網の漁獲性能

以西漁場における両漁業の 1947 年以後 10 年間の 1 曳網当りの平均漁獲高*を示したのが Table 5, Fig. 10 である。これは両漁業とも黄海，東支那海漁場で周年に亘る漁獲をその曳網回数で除したもので両漁業ともほぼ同じ条件であるとみてよろしい。

** 水産年鑑，昭和 31年，水産週報社。

Table 5. The catches per an operation of the otter trawl and the two-boat trawl

Year \ Item	The otter trawl	The two-boat trawl
1947	944.6 kg	850.5 kg
1948	886.5 〃	679.1 〃
1949	703.1 〃	575.6 〃
1950	465.4 〃	519.0 〃
1951	672.4 〃	605.3 〃
1952	826.1 〃	614.6 〃
1953	689.0 〃	548.0 〃
1954	674.3 〃	598.5 〃
1955	581.8 〃	602.3 〃
1956	476.3 〃	557.6 〃

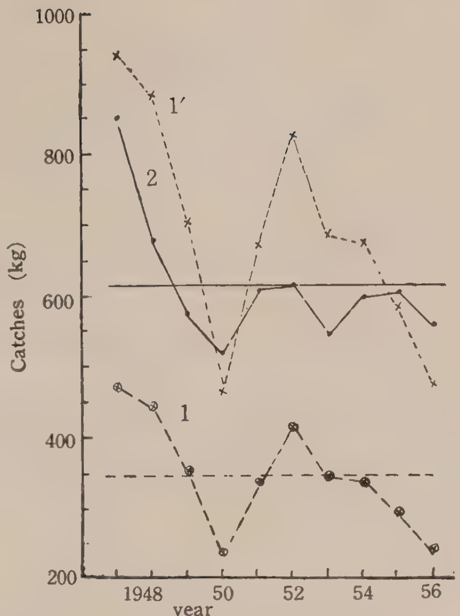


Fig. 10. Comparison of catch of the otter trawl with the two-boat trawl.
1: Catches of the otter trawl in 1.5 hours
1′: Catches of the otter trawl in 3 hours
2: Catches of the two-boat trawl in 1.5 hours

Table 5, Fig. 10 にみられるように，同一曳網時間（1.5 時間）での平均漁獲高はトロール網で 347 kg，二艘曳網で 615 kg となつている。このようにトロール網が二艘曳機船底曳網より劣つているのはいかなる理由によるかを考察すると次のように推察される。

（1） 曳網中の網の射影面積がトロール網が二艘曳網より甚しく小さい。

（2） 1曳網間の掃海容積は逆にトロール網が大で（二艘曳網の約2倍）あるが，魚族の存在密度が海底から 0〜2 m，2〜4 m，4〜10 m で 1: 5: 4 程度の比になつているのに，トロール網は密度の最小の 0〜2 m を掃海し，二艘曳網は最も多い 2〜4 m 層すなわち 0〜3.5 m を曳くためであろう。ただしトロール網も次第に改良され網高さが 3 m 及びそれ以上になつたものもある。これはタイショウエビに対して顕著な成績を挙げている。すなわち，トロール網もこの点は改良されてきている。

（3） 曳網中漁船の風浪の受け方によつて網口高さの変動が甚しく，網口で魚を嚇すことになつて容易に魚の入網を許さない。

（4） 網中で水が網外の流速（網と水との相対速度）程流れず，トロール網では 0.4 m/sec も低下している。このことは魚に網口でその異常を感じさせ*[2]，つづいて網の存在を認識させて，網口からの逸脱を試みる機会が多くなる。

二艘曳網ではこの流れの低下がトロール網の 1/2 の 0.2 m/sec でしかない（改良網では 0.03 m/sec）ので，これによる漁獲性能の低下が少ないと思われる。

（5） Otter board の不規則な運動のため，両 Otter board 間の魚族に威嚇を与え，また網の異常な運動の原因ともなり，魚族の入網を困難にさせる。

（6） トロール網は漁船からの距離が割合近く，漁船の発する音響（可聴，不可聴音）の影響が多く**，

* 前頁 * と同じ。
** タチウオを目的とした trawl の場合，Steam trawler が Diesel trawler より漁獲がすぐれており，同じ Steam trawler の場合も propeller が bronze 製と cast iron 製の場合とでは後者がすぐれている事実が漁獲統計から割り出されている。

二艘曳網はその距離がトロールの場合の約 2.5～3 倍あつて，しかも両曳船の中間を通るためその影響が少ないと考えられる。

またトロール網が二艘曳機船底曳網より優れている点をあげると次のようである。

（1） 曳網速度が速いので魚を追い込む点が優れている。

（2） Otter board により起される泥の煙幕が漁獲性能の向上に役立つと巷間にいわれている。

しかし，(1) は同時に現在のトロール網では網口で乱流が起り，必ずしも漁獲性能上の長所とはならない。また (2) は潮流によつて異るが，Otter board の後方になびいて，網口をかくすような状態にならず[3]，両袖の外側に 20～25 m* 程度離れたところを通り，煙幕の効果はない[4]ようである。

む す び

トロール網漁業と二艘曳機船底曳網漁業はともに海底附近に棲息している魚族を漁獲する漁業であるが，漁具学的にみて後者が勝つていると思われる。

しかし，トロール網の網成り（広義の）を二艘曳機船底曳網程度に改善することができれば，トロール網の漁獲性能は二艘曳機船底曳網を上廻るであろう。すなわち，前者は曳網速度が後者より 1 kt 以上速いだけその可能性がある。しかし，このためには網そのものの仕立て方を二艘曳網のように 4 枚合わせにすることが望ましい。また Otter board による直接間接の魚族に対する威嚇を防止するのも残された問題である。

文 献

1) 熊凝武晴・薬室親正・石井謙治： 漁研技報，**6**，p. 78～79.（1955）.
2) Marine Laboratory, Torry, Aberdeen : World Fishing Dec.（1952）.
3) Fish Industry, Sep.（1952）.
4) 三浦定之助： 魚の話，興亜日本社，東京，pp. 1～316.（1941）.

* Otter board 間隔は大体 70～75 m に対して，袖間隔は 25 m 程度であるから，煙幕の中心と袖端との間隔は $\frac{75-25}{2}=25\,\mathrm{m}$ となる.

トロール網に入る 2, 3 の水族の昼夜間による漁獲差について*

佐々木幸康・小池 篤

(1958 年 4 月 7 日受理)

VARIATION OF THE CATCHES IN DAYTIME AND NIGHT ON SOME SPECIES OF FISHES BY TRAWL NET

Yukiyasu SASAKI and Atsushi KOIKE**

This report is concerned in the catching variation of hair-tails, croacker and Korean prawn by steam trawler in the Eastern China Sea.

The data of this report are based on catching records which are presented by a fishing company.

Some conclusions may be brought as follows: variations of catches relating to a time, when fishing is done in daytime or night, have nothing to do with the ability of trawlers themselves, nature of fishing grounds and also trawling technique, have concern with vertical movements of fishes and also their gathering and distribution, which are influenced by the environments.

a) Correlation between catches and tidal current was not so remarkable (Fig. 3. a), b)).

b) Some variations of catches were obtained from different growth stages of the same species, and were concerned with the time when fishing was done during daytime or not (Fig. 2. a), b)).

c) Diurnal light intensities correlate with variations of the catches.

緒 論

トロール網に入網する魚の昼夜間の漁獲量に差異のあることは，既に知られておるが，その理由について十分には明らかにされていない[1),2)]。ここでは東支那海のトロール漁場で漁獲される 2, 3 の魚種を対称とし，漁獲資料にもとづいて昼夜間の入網量の差異について調べ，その理由について 1, 2 の知見を得たので報告する。

調査方法及び結果

調査方法は *A* 社の昭和 30 年 1 月，2 月，3 月のスチームトローラーの漁獲資料により，1 月分ではタチウオ hair-tails, *Trichiurus lepturus* (LINNE), キグチ croacker, *Pseudosciaena manchurica* (JORDAN et THOMPSON) について，2, 3 月分では大正エビ Korean prawn, *Penaeus orientaris* (KISHINOUE) について同一農林漁区内で連続 5 回以上操業したばあいのみについて取扱つた。なお同じスチームトローラー***でも漁具の装備その他の理由で，漁獲能率が変ると考えられるので，船別に昼夜による入網量の相違を調べるため，操業時刻を夜，昼，薄明の 3 つに分けて全操業回数に対する，キグチ，タチウオ，大正エビ各々の総漁獲箱数よりそれぞれの時刻に対する 1 回当りの平均入網箱数をしらべた(漁獲は全て小箱に換算した)****。

* 本報告の一部は昭和 31 年度文部省試験研究費により行われた。

** 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish.).

*** ヂーゼルトローラーとスチームトローラーでは魚種により漁獲に難易があるといわれている。

**** 小箱重量； キグチ 26.6 kg. タチウオ 21.4 kg. エビ 14.6 kg.

Table 1. Chi-square analysis of catches by steam trawler on each fishing boat in daytime, night and twilight: a). hair-tails.

Fishing boat	Daytime		Night		Twilight		χ^2
	Cases (numbers of working)	Cases per working (catch ratio, %)	Cases (numbers of working)	Cases per working (catch ratio, %)	Cases (numbers of working)	Cases per working (catch ratio, %)	
A	899 (54)	16.60 (18.1)	2,704 (52)	52.00 (56.6)	914 (39)	23.20 (25.3)	22.9
B	444 (32)	13.80 (15.4)	1,535 (34)	45.10 (50.6)	908 (30)	30.20 (34.0)	16.4
C	225 (56)	4.01 (11.6)	1,752 (74)	23.65 (68.2)	105 (15)	7.00 (20.2)	8.0
D	1,200 (38)	31.60 (15.9)	4,264 (46)	92.70 (46.8)	1,710 (23)	74.30 (37.3)	30.3
E	379 (36)	10.53 (10.6)	2,252 (40)	56.30 (56.6)	914 (28)	32.64 (32.8)	31.7
F	415 (38)	10.92 (12.4)	1,703 (37)	46.01 (52.6)	1,010 (33)	30.60 (35.0)	21.2
G	481 (48)	10.10 (13.1)	1,657 (45)	36.70 (47.5)	1,406 (46)	30.50 (39.4)	15.0
H	107 (45)	2.37 (10.9)	658 (55)	11.95 (55.4)	269 (37)	7.27 (33.7)	6.3
I	21 (31)	0.68 (27.6)	37 (29)	1.23 (49.8)	9 (16)	0.56 (22.6)	0.3
J	360 (25)	14.40 (10.0)	1,945 (24)	81.00 (56.4)	1,114 (23)	48.30 (33.6)	46.2
K	73 (22)	3.32 (4.8)	827 (20)	41.30 (59.7)	543 (22)	24.65 (35.5)	31.4
L	176 (14)	12.57 (12.0)	1,130 (18)	62.80 (59.7)	416 (14)	29.70 (28.3)	37.2
M	798 (41)	19.45 (18.5)	2,574 (46)	56.00 (53.2)	949 (32)	29.70 (28.3)	20.0
Total	5,578 (480)	11.62 (13.8)	23,038 (520)	44.30 (52.3)	10,262 (358)	28.68 (33.9)	19.0

Table 1. b). croacker.

A	723 (54)	13.40 (41.7)	489 (52)	9.37 (29.1)	367 (39)	9.40 (29.2)	1.0
B	90 (32)	2.81 (41.3)	50 (34)	1.47 (21.6)	76 (30)	2.53 (37.1)	0.4
C	539 (56)	9.60 (39.8)	465 (74)	6.27 (26.1)	123 (15)	8.20 (34.1)	0.7
D	249 (38)	6.55 (36.9)	199 (46)	4.32 (24.4)	158 (23)	6.86 (38.7)	0.7
E	142 (36)	3.95 (39.8)	98 (40)	2.45 (24.8)	98 (28)	3.50 (35.4)	0.4
F	382 (38)	10.05 (35.2)	353 (37)	9.55 (33.4)	296 (33)	9.00 (31.4)	0.1
G	406 (48)	8.47 (48.0)	177 (45)	3.93 (22.3)	241 (46)	5.24 (29.7)	1.9
H	700 (45)	15.55 (42.2)	530 (55)	9.63 (26.1)	432 (37)	11.65 (31.7)	1.5
I	174 (31)	5.61 (35.4)	150 (29)	5.16 (32.6)	81 (16)	5.06 (32.0)	0.03
J	95 (25)	3.81 (47.5)	43 (24)	1.79 (22.3)	56 (23)	2.43 (30.2)	0.8
K	200 (22)	9.10 (41.7)	156 (20)	7.80 (35.8)	108 (22)	4.90 (22.5)	0.4
L	139 (14)	9.85 (36.1)	130 (18)	7.21 (26.4)	144 (14)	10.25 (37.5)	0.6
M	176 (41)	4.28 (27.1)	254 (46)	5.51 (34.9)	192 (32)	6.00 (38.0)	0.3
Total	4,015 (480)	8.28 (39.7)	3,094 (520)	5.90 (28.4)	2,374 (358)	6.63 (31.9)	0.4

Table 1. c). Korean prawn.

Month	Fishing boat	Daytime: Cases (numbers of working)	Daytime: Cases per working (catch ratio, %)	Night: Cases (numbers of working)	Night: Cases per working (catch ratio, %)	Twilight: Cases (numbers of working)	Twilight: Cases per working (catch ratio, %)	χ^2
Feb.	*A*	172 (9)	19.20 (49.9)	2 (7)	0.29 (0.7)	76 (4)	19.00 (49.4)	18.4
〃	*H*	158 (18)	8.77 (60.4)	29 (10)	2.90 (19.9)	26 (9)	2.89 (19.7)	4.7
〃	*I*	99 (19)	5.22 (41.2)	65 (13)	5.00 (39.5)	17 (7)	2.43 (19.3)	1.2
〃	*K*	96 (10)	9.60 (49.0)	22 (9)	2.44 (12.4)	68 (9)	7.55 (38.6)	4.3
〃	*L*	28 (8)	3.50 (60.4)	18 (9)	2.00 (34.6)	2 (7)	0.29 (5.0)	2.7
Mar.	*B*	358 (14)	25.57 (68.6)	16 (9)	1.78 (4.8)	99 (10)	9.9 (26.6)	23.6
〃	*D*	227 (17)	13.35 (41.3)	103 (14)	7.35 (22.8)	58 (5)	11.60 (35.9)	1.8
〃	*E*	140 (8)	17.50 (55.8)	64 (8)	8.00 (25.5)	47 (8)	5.88 (18.7)	6.0
〃	*F*	191 (8)	23.90 (72.5)	6 (4)	1.50 (4.5)	38 (5)	7.60 (23.0)	24.4
〃	*G*	300 (10)	30.00 (73.7)	9 (4)	2.25 (5.5)	76 (9)	8.44 (20.8)	31.1
〃	*H*	133 (14)	9.50 (42.5)	51 (10)	5.10 (22.8)	93 (12)	7.75 (34.7)	1.3
〃	*I*	228 (21)	10.85 (61.7)	34 (17)	2.00 (11.5)	47 (10)	4.70 (26.8)	7.1
〃	*L*	33 (5)	6.60 (39.8)	9 (4)	2.25 (13.6)	23 (3)	7.67 (46.6)	3.0
〃	*M*	72 (10)	7.20 (34.2)	11 (6)	1.83 (8.7)	48 (4)	12.00 (57.1)	7.5
Feb., Mar.	Total	2,235 (171)	13.07 (55.2)	439 (124)	3.54 (15.0)	780 (102)	7.04 (29.8)	6.0

また1回操業当りの入網箱数の時刻別の比率を求めた。時刻別の平均入網箱数について χ^2 検定を行つたが，その結果は Table 1. a), b), c) に示す通りである。これによると程度の差はあるがタチウオでは *I* 丸を除く他の 12 船では何れも明瞭に夜＞薄明＞昼の順に1回当りの漁獲は多い。またキグチでは船別に時刻による差異が明らかではないが *M* 丸を除き昼＞夜の傾向が多少みられる。大正エビについては何れの船でも昼＞夜の関係が認められた。

また東支那海のごとくかなり広い海域では，同じ時期でも同一魚種でそれぞれの漁区によつて，魚群の生態的差異或いは底質等の相違のあることが予想され，それが入網量に影響をおよぼすことが考えられる。そこで操業回数が比較的多い漁区を摘出し調査した。その結果は Table 2. a), b) に示す通りである。これによるとタチウオでは何れの漁区でも夜＞薄明＞昼の順に多いが，キグチでは明瞭ではない。それぞれの漁区で操業するばあい，その漁区の主目的となる魚種以外のものでは入網量も少ないので，キグチのごとく1回当りの入網量の少ないばあいには，吟味の余地があろう。大正エビについては操業漁区が限られており，且つそれぞれの操業漁区が近接しているので，漁区別の差異については考慮の必要はないと考えられる。それぞれの魚種で時刻による入網量が船別，漁区別に大差のないものとして以上を全船，全漁区について取纒めると，Table 1. a), b), c) 下欄に示すごとく，タチウオでは明瞭に夜＞薄明＞昼間の順に多く，キグチでは明瞭でない。また大正エビでは 2，3 月を合せて昼＞薄明＞夜の順に入網が多い。また資料には漁獲が魚体の大きさ別に記録されている。即ちタチウオは体長ほぼ 120 cm 以上を大，120～100 cm を中，100～80 cm を小，80～50 cm をヒモとし，キグチは 35 cm 以上を大，35～25 cm を中，25～15 cm を小，15 cm

Table 2. Chi-square analysis of catches by steam trawler on each fishing ground in daytime, night and twilight: a) hair-tails.

Fishing ground sectioned by government	Daytime		Night		Twilight		χ^2
	Cases (numbers of working)	Cases per working (catch ratio, %)	Cases (numbers of working)	Cases per working (catch ratio, %)	Cases (numbers of working)	Cases per working (catch ratio, %)	
333	84 (38)	2.21 (16.5)	274 (37)	7.40 (55.1)	84 (22)	3.82 (28.4)	3.2
313	97 (17)	5.70 (11.3)	460 (18)	25.50 (50.7)	267 (14)	19.10 (38.0)	12.3
324	478 (38)	12.60 (16.7)	1,544 (39)	39.60 (52.5)	602 (26)	23.20 (30.8)	14.7
314	171 (17)	10.10 (17.1)	640 (19)	33.70 (56.9)	185 (12)	15.40 (26.0)	15.6
304	1,078 (69)	15.60 (12.7)	5,090 (72)	70.70 (57.4)	2,024 (55)	36.8 (29.9)	37.4
*A**	628 (50)	12.60 (16.4)	1,897 (59)	32.20 (41.8)	1,258 (39)	32.20 (41.8)	9.7
*B**	1,567 (83)	18.90 (13.4)	5,514 (85)	64.90 (45.9)	3,449 (60)	57.50 (40.7)	25.9
*C**	487 (76)	6.40 (10.8)	2,802 (88)	31.80 (53.9)	1,328 (64)	20.80 (35.3)	16.4
*D**	56 (23)	2.40 (12.7)	266 (26)	10.20 (54.0)	63 (10)	6.30 (33.3)	4.8

Table 2. b). croacker.

Fishing ground sectioned by government	Daytime		Night		Twilight		χ^2
	Cases (numbers of working)	Cases per working (catch ratio, %)	Cases (numbers of working)	Cases per working (catch ratio, %)	Cases (numbers of working)	Cases per working (catch ratio, %)	
333	195 (38)	5.12 (34.4)	187 (37)	5.05 (33.9)	104 (22)	4.73 (31.7)	0.02
313	169 (17)	9.92 (33.8)	158 (18)	8.85 (30.1)	149 (14)	10.61 (36.1)	0.2
324	870 (38)	22.90 (39.3)	641 (39)	16.40 (28.1)	494 (26)	19.00 (32.6)	1.1
314	43 (17)	2.52 (42.0)	17 (19)	0.90 (15.0)	31 (12)	2.58 (43.0)	0.9
304	42 (69)	0.61 (58.7)	9 (72)	0.12 (11.5)	17 (55)	0.31 (29.8)	0.4
*A**	20 (50)	0.40 (26.3)	10 (59)	0.17 (11.2)	38 (39)	0.95 (62.5)	0.7
*B**	656 (83)	7.90 (38.7)	462 (85)	5.40 (26.5)	429 (60)	7.11 (34.8)	0.5
*C**	1,679 (76)	22.00 (48.0)	1,039 (88)	11.80 (25.7)	771 (64)	12.05 (26.3)	4.4
*D**	99 (23)	4.30 (34.7)	70 (26)	2.69 (21.7)	54 (10)	5.40 (43.6)	0.9

* fishing ground near the continent.

以下を豆としてそれぞれ分類している。そこで昼夜の入網魚について漁区別，体長別の入網組成を調べると扱つた範囲では漁区によつて大きな差がないので，全漁区について集計すると Fig. 1. a), b) に示す通りである。これによればタチウオでは小型魚の組成が夜間に増加し，また薄明時の入網組成は昼と夜の間に位する。またキグチでは夜間 35～25 cm のものが他の時刻に比して多い傾向がみられる。各時刻を通じてタチウオでは 120～80 cm，キグチでは 35～25 cm のものが最も多い。魚体の大きさによる昼夜間の入網差を調べるため，体長別に最もとれない時刻，即ちキグチでは夜間の入網量を，またタチウオでは昼間の入網量を 1

として調査した結果は Fig. 2. a), b) に示すようになつたが，これによればタチウオは魚体の小さいもの程入網差は大きいが，キグチについてはタチウオ程整一な結果はみられなかつた。なお大正エビの体長別の記録は少ないので省略した。

一般に昼夜による入網量の差異が，操業船，漁区の如何にかかわらず，この時期にみられるのは，漁場，

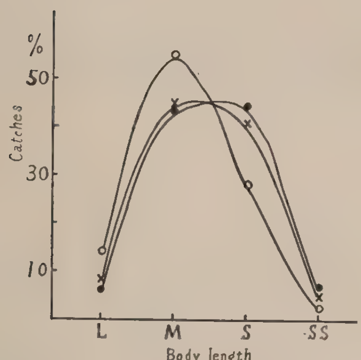


Fig. 1. a). The size composition of hair-tails in daytime, night and twilight. ○, ×, ● represent daytime, twilight and night respectively. Numerals on the ordinate show catch ratio and letters on the abscissa the body length: L, large size (−120 cm); M, medium size (120−100 cm); S, small size (100−80 cm); SS, smaller size (80−50 cm).

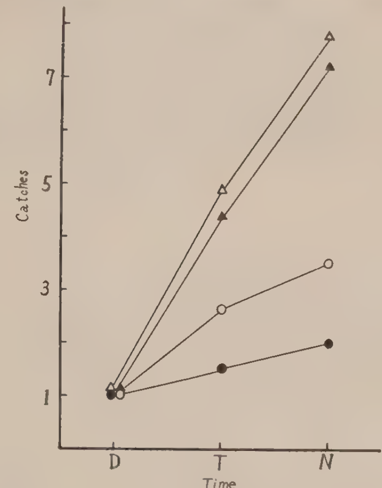


Fig. 2. a). The difference of catches by the size of fish in daytime, night and twilight (hair-tails). ●, ○, ▲, △ represent the size of fish; large size, medium size, small size and smaller size respectively. Numerals on the ordinate show catch ratio and the letters on the abscissa the time: D, daytime; T, twilight; N, night.

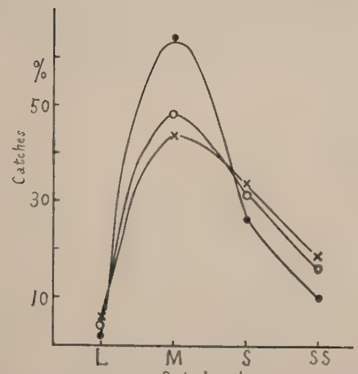


Fig. 1. b). The size composition of croacker in daytime, night and twilight. ○, ●, × are the same as a): L, (−35 cm); M, (35−25 cm); S,(25−15 cm); SS, (15 cm−).

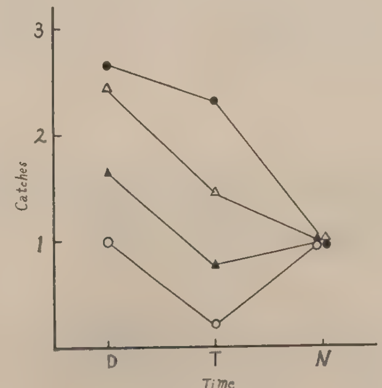


Fig. 2. b). The difference of catches by the size of fish in daytime, night and twilight (croacker). Marks are the same as a).

漁船の性能，操業技術等の差異によるものではなく，種々の海況因子等外部的干渉要因にもとづく，魚群の浮上，沈下または聚合離散によるものと考えられるので，これらの魚種について入網差を生ぜしめると予想される要因について考えてみる。

1) 東支那海の底層の潮流については観測例も少ないが，宇田[3]によると半日週期の潮汐流が最も強勢を示している。そこで潮汐流と関係のある月令について調べたところ，潮汐流の弱いと推定される望朔の中間の日と，潮汐流の強い望朔の日の操業結果について，昼夜間の1回操業当りの漁獲箱数の比をとつてみるとFig. 3. a), b) に示すように日によつて変動は大きいが，昼夜による入網量の差が認められ，また潮流の強いと予想されるばあいでも差異がみられる。このばあい潮汐は連続しており，漁獲は1日を通じて昼，夜のみ扱つているので解析も十分ではないが，潮汐流が昼夜間の入網差を生ずる主なる原因ではないと推定される。

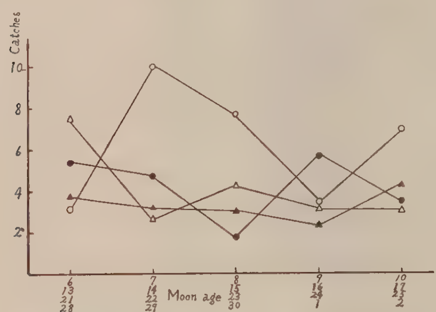


Fig. 3. a). Relation between catch ratio and moon age (hair-tails). ○, ●, △, ▲ represent moon age; 6～10, 13～17, 21～25, 28～2 respectively. Numerals on the ordinate show ratios of cases in night/cases in daytime and those on abscissa moon age.

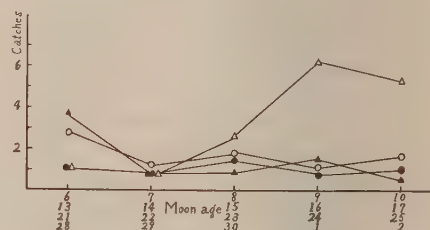


Fig. 3. b). Relation between catch ratio and moon age (croacker). Marks are the same as a). Numerals on the ordinate show ratios of cases in daytime/cases in night and those on abscissa moon age.

2) 昭和 31 年 11 月本学神鷹丸*の東支那海での水中照度測定によると，透明度 15 m 内外で 1 m 当り消滅係数がほぼ 0.07 位であり，扱つた資料の操業水深は 60～80 m であるから，明るさは 1～1×10² *Lux*** 内外と思われる。これらのことから昼夜による入網量の差異を生ずる原因は，明るさが直接間接に魚群の浮上沈下或いは聚合離散に影響を及ぼし，これが入網量に関連があるものと考えられる。またタチウオで魚体の小さいもの程昼夜の漁獲差の大きい理由については将来検討したい。

文　　献

1) 大津留健： 東支那海底魚源調査要報 (別冊), (1948).
2) 神田献二： 水産研究誌, **41**, (1), 41～481 (1951).
3) 宇田道隆： 水試報告, **5**, (1934).

* 測定点； 31°－30′N, 126°－30′E～128°－30′E の間9点。
測定日時； 11 月初旬，晴天，午後1時 30 分，海況 2～3，水面下 1m の上向き明るさは約 5×10³ *Lux* であつた。

** 水中照度は水深 25 m まで測定し，$I_x = I_0 e^{-\beta x}$ より消滅係数を求めた。この係数により明るさを計算した。大陸よりの漁場ではこの係数が大きいことが予想される。季節，時刻等により異るが，60～80 m の深さの 11 月頃最も明るいときの推定値である。

海流浮標の漂流結果からみた母船式サケマス流網漁場内の表層流について

田口喜三郎

(1959 年 4 月 8 日受理)

ON THE SURFACE CURRENTS IN THE WATERS FISHED BY JAPANESE SALMON MOTHERSHIPS FROM THE RESULTS OF DRIFT FLOAT EXPERIMENTS.

Kisaburō Taguchi

Through the oceanic investigations in the past, it is known that the migration of salmon coincides with the movement of certain oceanic currents. Based on this finding, investigations of current movements by means of buoys were conducted in 1958 season, in order to clarify the migration pattern of salmon.

Nine thousands eight hundreds fifty five buoys were released and 1533 were recovered, making the rate of recovery about 15%.

Results of the above investigations suggest that:

1. In the waters between Kamchatka Peninsula and the western Aleutian Islands, there is an anti-clockwise current in the summer season.
2. In May, the center of this current is located around 170°E and 50°N, and it gradually moves westwards.
3. In June, the center of this current is found around 165°E and 50°N, and then it moves in the northwest direction.
4. In July, the center of the current makes little movement, and toward the end of July it begins to move southeastwards.
5. The above-mentioned movements of the center of the current indicate that through May and June the influence of the warm current moving northwestwards in the southern part of the North Pacific becomes predominant, while the cold current moving southwards along the Kamchatka Peninsula decreases its power, and that beginning in July, this relation of strength between the warm and cold currents is gradually reserved.

1. 前　　言

1940・41 両年にカムチャッカ近海で行つた海流瓶の漂流結果[1]が，この水域でのサケ・マス魚群の回游と大体一致していたことから，沖合水域でもサケ・マスの回游は，表層水の流動と大体一致するだろうと推定され，このことはまた水温および塩分の分布状況からも推定された[2]。

北太平洋・アリューシャン水域の海洋構造及び海流については，既に 2，3 の報告[3),4)]があり，大体の骨組は推定されているが，サケ・マス魚群の回游と関連させてみるためには，時期的な変化の状況や流れの速さが不明なことと，観測点が魚群分布水域を充分カバーしていないこと等の理由から，不充分であつた。

これらの欠陥を補い，流速をも観測するため，海流浮標の投入が 1958 年度の漁期間中に母船式サケ・マス漁業の操業水域全面で行われた。この目的は沖合水域でのサケ・マスの回游状況を間接的にしるためで，以下はこの観測結果の大要を報告するものである。

* 日魯漁業 KK. (Nichiro Fish. Co. Ltd.).

なおこの調査は北洋資源研究協議会で計画されたがこの実施は水産庁によつて行われ，母船に乗船した水産庁の監督官によつて資料が集められ，これが取まとめを筆者が行つた。

2. 方　　法

海流浮標はサケ・マス流網に使用するビニール製浮子を横に3分したものを使用した。これに 20 号綿糸約 1m の長さのものを結び付け，この綿糸の末端には魚釣用の鈎3個を碇のようにして結着した。碇をつけた理由は，浮子だけでは海面に浮上し，風によつて流動するため，これを防止する必要があること，沖合で浮標を拾得するためにはサケ・マス流網に転絡させる必要があること，この二つである。

海流浮標の投入は 10,000 個を予定し，これを北太平洋水域で操業する 15 隻の母船から毎日大体 5～10 個宛それぞれの操業地点で投入することを計画した。これによつて操業水域全面をカバーし，更に海流の時期的変化をも観察しようとしたものである。

3. 実 施 状 況

全投入数は 9,854 個・有効全拾得数は 1,533 個 (15.6%) (Table 1)。投入位置はアリューシャン列島の南側沖合からカムチャッカ半島東海岸沖合に至る 180° 以西・北緯 46° 以北の北太平洋全域に亘つているが，その分布は海面を Fig. 1 に示すように 10 に区分し，各区分された水域内での投入数で示すと，経度 165°～175°E の間に最も多く，以下 160°～165° E，170°～175° E，160° E 以西，175° E 以東の順となつている。また半月毎の期別に投入状況をみると，5 月中は

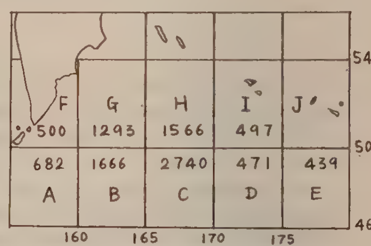


Fig. 1. Number of released drift floats in each sections.

Table 1. Number of released drift floats and its recoveries in each half month in each region which were divided into rectangles 4 degree latitude and 5 degree longitude.

Area	Later half of May		First half of June		Later half of June		First half of July		Later half of July		Total No. of released drift float
	No. of relea-sed	No. of reco-very	No. of relea-sed	No. of reco-very	No. of relea-sed	No. of reco-very	No. of relea-sed	No. of reco-very	No. of relea-sed	No. of reco-very	
(175°–180°E)											
J	0										
E	10	0	429	63							439
(170°–175°E)											
I	297	40			200	13					497
D	361	18	110	5							471
(165°–170°E)											
H	363	64	600	77	533	55	50	2	20	7	1566
C	1344	237	657	136	490	48	94	19	155	16	2740
(160°–165°E)											
G	5	0	164	25	395	75	543	61	186	21	1293
B	267	59	130	32	385	73	614	145	270	36	1666
(155°–160°E)											
F	0				185	63	195	61	120	18	500
A	0				25	0	383	55	274	9	682
Total	2647	418	2090	338	2213	327	1879	343	1025	107	

Total number of released drift floats ······9854
Total number of recovery ······1533
Rate of recovery ······15.6%

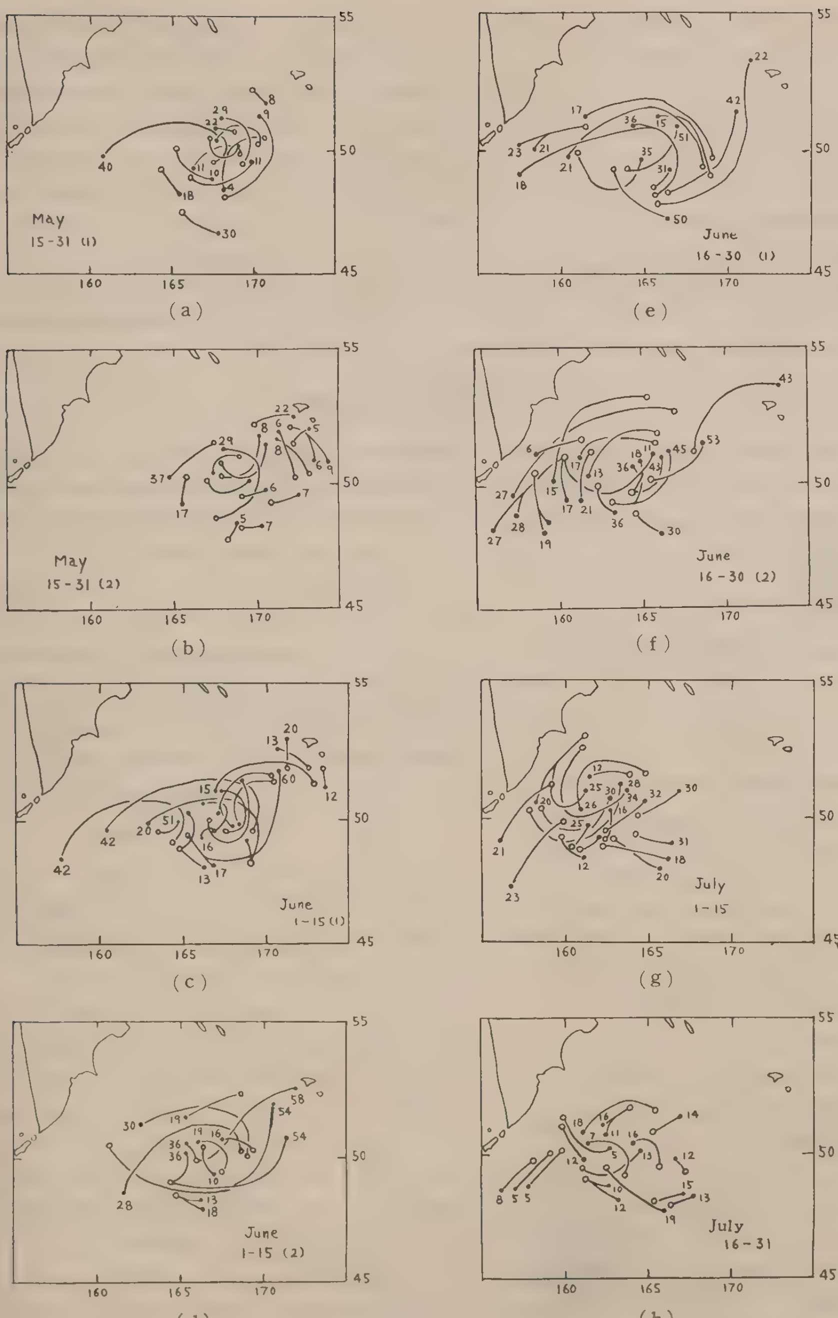


Fig. 2. Typical drift courses of drift floats released in each half month. : Position of released, ● : Position of recovered, Figure denotes the term of drift by number of days.

2647個，6月前半は2090個，同後半は2213個，7月前半は1879個，7月後半および8月初めの間に1025個となり，7月以後は比較的少ない。これはアリューシャン方面での状況を特に知りたかつたことと，カムチャッカ近海については既に明らかにされていたためである。175°E 以東・ベーリング海・46°N 以南および54°N 以北の各水域では投入も拾得もない。この理由はこれらの水域で母船が操業しなかつたためである。従つてこれらの水域に漂流していつたものがあるかもしれないが，これらの状況については不明である。実際の拾得数は表に示したものより多いが，浮標に記入した番号の消失したものが169個・報告中に同一番号で拾得位置の違うものが3個・更に投入月日より先に拾得されたことに報告されたもの1個があり，これらを除外したためである。

投入から拾得に至る経過日数は，最短は翌日，最長は60日，10日から30日のものが相当に多く，また漂流距離を直線でみると，最短は同一地点，最長は400浬，60浬から120浬の間のものが相当に多い。これらのものが表層流の流向，流速判断に有用な資料となつている。

4. 漂流状況及びその検討

投入位置から拾得位置に向つて直線をひくと，近接地域でも逆方向になるものがあり，また長期間殆んど流れていないものがみられる。この原因は拾得までの経過日数が長い時は漂流中の経路が不明なこと，環流があるらしいこと，この環流は時期によつて状況が変るらしいこと，これらにあると推定された。

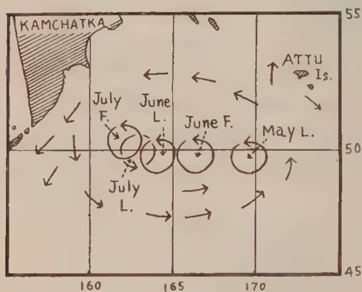


Fig. 3. General aspect of the movement of the center of the anticlockwise circulation in the waters of the western N. P.
Letter: every half month (F.; first half month, L.; later half month), circules denote the center of circulation, arrows show the direction of currents.

そこでこれらをみやすくするため，5月から8月までの期間を半月毎の5期に分け，各期別にそれぞれの期間中に投入したものについて漂流状況を整理した。浮標の漂流状況の内主要なものを選んで示すと Fig. 2 となる。これから推定される表層流の流動状況を模式的にすると Fig. 3 となる。

5月中の投入点は 165°E と 170°E との間のアッツ島南沖合に限られているが，この水域では 48°～50°N，167°～170°E の範囲内に中心をもつ反時計回りの環流がみられる。

6月前半の投入点は 160°～170°E の間となり，5月より西方に範囲が拡がつたが，その結果は前記環流の中心が 50°N，165°E 附近へと西に移動し，アッツ島の南沖を NE に向う流れの巾が広くなつたことを示している。

6月後半になると，環流の中心は 50°N 線上を 160°～165°E の中間へと更に西進している。カムチャッカ半島東岸沖合では SW の流れがあり，その一部は半島南端から SE に向つて環流の右半分を形成している。これはアッツ島の南沖を NW 方向でカムチャッカ半島に向う流れの巾が広がることに原因するらしい。この流れはカムチャッカ沖に達すると SW に方向をかえることが示されている。

7月になると投入点はカムチャッカ近海から 165°E までの水域に集つている。この時期には環流の中心は 160°～165°E の中間にあり，今までの西への移動は止まる。しかし稍北方に移動して中心は 50°～51°N 附近となつている。そして 49°N 附近では東へ向う流れがみられる。このことは環流の大きさが小さくなつたこと，この原因として黒潮の勢力が北に進んだことを推定させる。

7月後半になるとカムチャッカ南端から SE に向う流れが強くなり，環流の中心は今までとは逆に南に下つてくるようすがみられる。一方6月に投入され8月に拾得されたものから，7月，8月の流れの状況をみると，50°N，160°E 附近から南を迂回してアッツ島の北側に達する流れがあると推定される。

以上を全体的に見ると，カムチャッカ半島，コマンドルスキー群島およびアッツ島にかこまれた水域には，

夏期には反時計廻りの環流があるという FLEMING[4]，宇田の推定は正しいと判断される。そしてこの環流について今回の観測で新たに明らかにされたことは次の諸点である。

5月中はカムチャッカ方面から SE に張り出す寒流勢力が未だ強く，アッツ島の南を NW に向う暖流系の水の力は弱い。従つてこの二つの流れによつて作られる環流の中心はアッツ島の南沖に現われる。しかし盛夏が近づくに従い，アッツ島南沖を NW に向う暖流系の水は勢力を増し巾を拡げる。このため環流の中心は西方へと移動する。これに反しカムチャッカ南端を SE に向う流れの巾はせまくなり，勢力は小さくなる。この状況は7月中旬まで持続するが，7月中旬をすぎるとカムチャッカ沿岸から SE に張り出す流れが強くなる。この環流の速度を外側の方でみると，南側を半周するのには 30～60 日かかり，北側を半周するのにはこれよりやや早く 20～30 日と推定される。従つて流速は速い時は 15 浬/日，遅い時は5浬/日位で大体 7～12 浬/日の速さで流れているとみることができる。

この観測は詳細に検討するなら 2～3 の不備がある。一つは浮標は風によつて流動し，表面流と一致しないと考えられるものがあること，投入点，拾得点の位置が必ずしも正確でないこと，このため近距離の漂流には正確を期待しえないこと，漂流経路の長いものについては途中の経路を推定によつていること，これらの点である。しかし上記の推定は，今までの一般海洋観測の結果とも大体一致しており，大きな誤りはないものと判断される。他の一つは投入および拾得が日本のサケ・マス流網漁船に限られている点である。このため重要な 175°E 以東の水域及びベーリング海での状況が明らかにされなかつた。その点は次回に改めて考慮する必要がある。なお投入，拾得の一覧表は省略した。

文　　献

1) 田口喜三郎: 海流瓶よりみたカムチャッカ・サケ・マス沖取漁場の海流について. 太平洋漁業KK. (1942).
2) 田口喜三郎: 北洋のサケ・マス漁業とその資源. 日魯漁業 KK. (1957).
3) 北野清光: Bering 海及び Aleutian 水域の海洋構造. 北海道区水産研究所. (1958).
4) R. H. FLEMING: Review of the Oceanography of the North Pacific. Bull. 2. Inter. North. Pacific Fish. Comm. (1955).

幽門垂蛋白分解酵素に関する研究—I.*

鮪幽門垂蛋白分解酵素の結晶分離

斗ケ澤宜久・勝又悌三

(1958 年 12 月 26 日受理)

STUDIES ON THE PROTEINASE OF PYLORIC CAECA—I. PREPARATION OF CRYSTALLINE PROTEINASE OF TUNNY PYLORIC CAECA

Yoshihisa TOGASAWA and Teizo KATSUMATA**

The purification of the proteinase of tunny pyloric caeca was carried out as follows; the distilled water extraction of ground material, salting-out with ammonium sulphate, dialysis, rivanol treatment for removal of amylase, fuller's earth treatment, and precipitation and crystallization with acetone (Fig. 3).

The crystals of proteinase were obtained in the form of needles (Fig. 4).

The crystalline proteinase was obtained with an yield of 1.5% in activity and a specific activity increased 20.6 times as compared with the original solution (Table 3).

蛋白分解酵素の結晶は NORTHROP 等[1]の研究以来，近時種々の微生物から分離され[2-16]，また水棲動物では鯨，海豹などの胃から結晶 pepsin が分離されている[17]。一方魚類酵素としては結晶として分離されたのは NORRIS 等[18,19]による鮭及び鮪胃の pepsin が報告されているに過ぎない。

著者等は鮪幽門垂から蛋白分解酵素を結晶として分離したのでその結果を報告する。

実験方法

1. 酵素液の調製法: 新鮮な鮪 *Thunnus orientalis* TEMMINCK et SCHLEGEL 磨砕幽門垂の 3 倍量水抽出液をガーゼ及び脱脂綿で沪過して得た不透明酵素液を原液 (A 液) として供試した。

2. 酵素力測定法: proteinase は前報[20]に従つて行い，また amylase は WILLSTÄTTER, WALDSCHMIDT-LEITZ[21] の方法に準じ 50 ml フラスコに 1% 可溶性澱粉 25 ml, M/5 phosphate buffer (pH 6.8) 10 ml, N/5 NaCl 1 ml, 酵素液 2 ml をとり，水を加えて全量を 40 ml とする。トルオールを少量加えて 37° ± 1°C の恒温槽中で反応させ，一定時間毎にその 5 ml をとり，1N HCl 2 ml を加えて酵素作用を停止させ，一定量の N/10 沃度液を加え，0.4N NaOH でアルカリ性として15分室温に放置後 0.5N H_2SO_4 で酸性とし過剰の沃度を N/20 $Na_2S_2O_3$ で滴定，blank test も同時に行つて滴定値を補正した。

3. 酵素単位表示法: 酵素力測定法に従い，pH 7.6, 37° ± 1°C で 1 時間作用させた時の酵素反応液 0.2 ml に対して N/100 alcoholic KOH 0.05 ml を消費するような酵素量を 1 proteinase 単位とした。

4. 酵素純度表示法[20]: 蛋白態窒素 1 mg 当りの proteinase 単位で表した。

結果並びに考察

1. 塩析範囲の決定

A 液を硅藻土の薄層を作つた沪紙で吸引沪過する事により透明液 (B 液) を得，これを塩析範囲の決定に

* 昭和 33 年 10 月，日本農芸化学会東北支部大会講演

** 岩手大学農学部 (Fac. of Agr. Iwate Univ., Morioka, Iwate Pref. Japan).

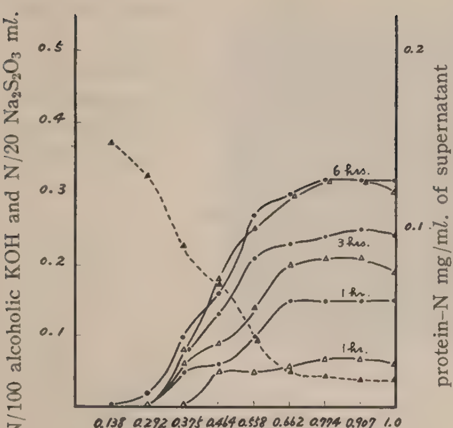


Fig. 1. Salting-out of enzymes with ammonium sulphate.

●——● Proteinase
△——△ Amylase
▲- - -▲ Protein-N

使用した。即ち 10 ml の目盛付試験管に B 液を各々 5 ml とり，所要量の粉末硫安を加えて溶解させ 2% NH_4OH で pH を 6.0 に調整し，蒸溜水で 10 ml に稀釈，室温に 2 時間放置後遠心分離（10000 r. p. m., 5 分）し，各沈澱をそれぞれの飽和度の硫安溶液で 1 回洗滌後 5 ml の ammonium buffer (pH 8.0) に溶かし遠心分離（10000 r. p. m., 5 分）して不溶部を除き，上澄液を酵素力の測定に供した。

結果は Fig. 1 の如くであり，硫安の飽和度は Osborn 飽和度で示し，また蛋白態窒素は塩析物の沪液について定量したが，proteinase, amylase 共に 0.29 飽和で殆んど塩析されず，また 0.66 飽和以上では塩析物の酵素力最大で且殆んど等しく，結晶化の目的のためには 0.3 から 0.7 飽和までの間で塩析される区分を採用した。

2. 塩析に対する pH の影響

10 ml の目盛付試験管に B 液各 5 ml とり，各々に粉末硫安 3g 加え (0.464 飽和), N/50 HCl 及び 2% NH_4OH で pH をそれぞれ 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0 に調整，蒸溜水で 10 ml に稀釈，2 時間室温に放置後遠心分離（10000 r. p. m., 5 分）し，沈澱を同濃度の硫安溶液で洗滌後 pH 8.0 の ammonium buffer 5 ml に溶解，遠心分離してその上澄液の酵素力を測定したが，溶液の pH に基く塩析効果の相違は殆んど認められなかつた。

3. Rivanol による proteinase と amylase の分離

B 液に粉末硫安を加えて 0.3 飽和とし生じた沈澱を除去後更に 0.7 飽和にして得られた沈澱を蒸溜水に溶かし，氷室中コロジオン膜に入れ外液 M/1000 KH_2PO_4 に 3 日間透析する。この透析液を硅藻土沪過して得た透明液 (C 液) を 5 ml メスフラスコに各 4 ml とり，1% rivanol を最終濃度 0.02～0.16% になるごとく加え，蒸溜水で 5 ml に稀釈し良く攪拌する。遠心分離 (10000 r. p. m., 5 分) してその上澄液について酵素力を測定した結果を示すと Fig. 2 のごとくであり，proteinase 並びに amylase の酵素力はそれぞれ N/100 alcoholic KOH 及び N/20 $Na_2S_2O_3$ の ml 数で表した。

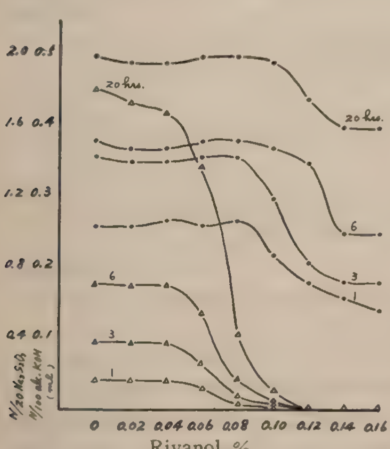


Fig. 2. Removal of amylase from the extract by the use of rivanol.

●——● Proteinase
△——△ Amylase

結果 proteinase は rivanol の 0.08% 添加まで全く影響されず，0.1% 以上に於て漸次酵素力を減少する。一方，amylase は 0.04% 添加から酵素力が減少し始め，0.12% で amylase-rivanol 沈澱の形成が完全に行われる。以上のことから rivanol 0.12% で処理することにより完全に amylase を含まぬ proteinase 溶液が得られ，また rivanol 0.08% 以下で処理する事により逆に proteinase を含まぬ amylase-rivanol 沈澱が得られる。

4. Rivanol 除去に対する酸性白土の影響

rivanol の存在は酵素の結晶化を妨害するので予めこれを除く必要があり，多くの場合この目的のため酸性溶液中で酸

性白土を使用しているが，既報[20]のごとく酸性白土はよく proteinase を吸着するので rivanol 除去の際の酸性白土の影響を試験した。

即ち 5 ml メスフラスコに C 液 4 ml とり，1% rivanol 0.6 ml (0.12%) を加えて生じた沈澱を沪別し，沪液に Table 1 のごとく酸性白土を加え蒸溜水で 5 ml にし攪拌後 10 分間室温に放置し，遠心分離 (10000 r.p.m.，5 分) してその上澄液を proteinase の測定に供した。一方 rivanol-amylase 沈澱は 0.5 M acetate buffer (pH 6.0) 5 ml に溶かし，これに各量の酸性白土を加えて遠心分離し上澄液を amylase の測定に供した。

Table 1. Effect of fuller's earth on the removal of rivanol

	Fuller's earth (%) / Hrs. of hydrolysis	0.2	0.4	0.8	1.0	1.2	1.6	2.0	Control
Proteinase	1	0.09	0.10	0.10	0.10	0.07	0.04	0.03	0.10
	3	0.22	0.22	0.20	0.18	0.17	0.10	0.09	0.22
	6	0.33	0.33	0.29	0.27	0.25	0.19	0.16	0.33
	20	0.50	0.51	0.46	0.45	0.45	0.43	0.40	0.51
Amylase	1	0.10	0.09	0.08	0.08	0.08	0.07	0.07	0.11
	3	0.38	0.31	0.26	0.25	0.22	0.20	0.16	0.40
	6	0.70	0.62	0.52	0.48	0.43	0.41	0.29	0.72
	20	1.74	1.69	1.57	1.50	1.38	1.36	1.11	1.84

Table 1 は proteinase 並びに amylase の酵素力をそれぞれ N/100 alcoholic KOH 及び N/20 $Na_2S_2O_3$ の ml 数で表わしたものである。即ち酸性白土1%添加により上澄液が殆んど無色となり rivanol が除去され，しかも proteinase は殆んど吸着されず，添加酸性白土量がこれより増加するに従い proteinase の損失も増加する。一方 amylase の場合は添加酸性白土量の増加につれて漸次吸着され，酵素力も極めて徐々に減少する傾向が見受けられた。

結局 amylase を含まない proteinase 溶液は C 液に rivanol (最終 0.12%) を添加して生じた沈澱を沪別し，沪液に酸性白土 1% 添加する事により得られ，一方 proteinase を含まない amylase 溶液は C 液に rivanol (最終 0.08%) を添加して生じた沈澱を 0.5 M acetate buffer に溶かし，酸性白土 1% 添加する事により得られる。

5. Proteinase の結晶分離

実験 1〜4 までに得られた結果を応用し Fig. 3 に示す方法で proteinase の結晶化を行つ

Fig. 3. Crystallization procedure of tunny pyloric caeca proteinase

Fresh tunny pyloric caeca 590 g.
- added with 1770 ml. of distilled water and ground with Waring blender

Filtrate (A) 2060 ml. — Precipitate
- filtered through a layer of celite on a Buchner funnel

Filtrate (B) 1660 ml. — Precipitate
- added with ammonium sulphate to 0.3 satn. (pH 7.0〜7.2), filtered, then added to 0.7 satn., held at 0°C for one day

Precipitate — Filtrate
- washed with 0.7 satd. ammonium sulphate soln., dissolved in 120 ml. of distilled water, then filtered through celite

Filtrate — Precipitate
- dialyzed against M/1000 KH_2PO_4 soln. (pH 7.0〜7.2) at 2〜3°C. for 3 days, then filtered through celite

Filtrate (C) 200 ml. — Precipitate
- added with 30 ml. of 1% rivanol soln. and 20 ml. of distilled water, then centrifuged

Supernatant — Precipitate
- decolorized with fuller's earth, centrifuged

Supernatant (D) 250 ml. — Precipitate
- added with acetone to 70% at −5°C., held at 0°C. for one day

Precipitate — Supernatant
- washed with 70% acetone, and dissolved in 5 ml. of distilled water, added with acetone up to formation of turbidness and held at 0°C. for 10 days

Crystal (E) 7 mg.

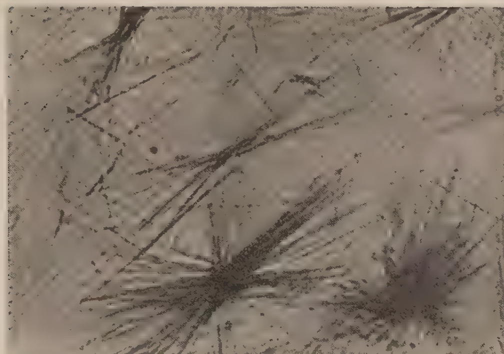


Fig. 4. ×600

た。Fig. 4 は得られた鮪幽門垂蛋白分解結晶酵素である。

6. 精製過程における酵素力，収量並びに比活性度

上記精製過程における proteinase 酵素力を N/100 alcoholic KOH の m*l* 数で示すと Table 2 の如くであり，その収量，比活性度を示すと Table 3 の如くである。

Table 2. Activities of fractions of proteinase

Hrs. of hydrolysis	A	B	C	D	E
1	0.09	0.10	0.26	0.10	0.09
3	0.30	0.35	0.35	0.18	0.15
6	0.41	0.42	0.37	0.27	0.19
20	0.50	0.51	0.50	0.45	0.35

Table 3. Yields and specific activities of fractions of proteinase

	A	B	C	D	E
Volume (m*l*.)	2000	1660	200	250	30
Total protein N (mg.)	1382	495.48	122.8	20	1.0
Total proteinase unit	240000	221332	69332	33332	3600
yield (%)	100	92.2	28.9	13.9	1.5
Specific activity	174	447	565	1666	3600
Ratio of specific activity to A	1	2.6	3.2	9.6	20.6

なお表中の収量は酵素原液（A液）中の酵素単位で各精製過程における酵素単位を除して求めた百分率で表し，比活性度は proteinase unit/protein-N (mg) で表したものである。

結晶 proteinase の収量は酵素原液に対して 1.5%，比活性度は 20.6 倍であつた。

要　約

鮪幽門垂から proteinase を結晶状に得た。

即ち鮪幽門垂磨砕物の水抽出液を原液とし，硅藻土沪過，硫安分別沈澱，透析，リバノール処理による amylase 除去，酸性白土処理，アセトン沈澱等を経て proteinase の針状結晶を得た。

該酵素の収量及び比活性度は酵素原液に対してそれぞれ 1.5%, 20.6 倍であつた。

文 献

1) J. H. NORTHROP et al.: *J. Gen. Physiol.*, **13**, 739 (1930). **16**, 295 (1932). **16**, 615 (1933). **19**, 991 (1936).
2) W. G. CREWTHER, F. G. LENNOX: *Nature*, **165**, 680 (1950).
3) S. D. ELLIOTT: *J. Exptl. Med.*, **92**, 201 (1950).
4) J. FUKUMOTO, H. NEGORO: *Proc. Japan Acad.*, **27**, 441 (1951).
5) A. V. GUNTELBERG, M. OTTESSEN: *Nature*, **170**, 802 (1952).
6) 三宅 捷・清水淳一: 兵庫農大報告 (農化篇), **1**, 11 (1953).
7) 三宅 捷・浜口陽一・高橋慶子: 生化学, **26**, 105 (1954).
8) 三宅 捷・吉村貞彦・柳下一愛: 兵庫農大報告 (農化篇), **1**, 47 (1954).
9) 三宅 捷・吉村貞彦・吉村康郷: 兵庫農大報告 (農化篇), **2**, 81 (1956).
10) 赤堀四郎・萩原文二・池田徳治・迫田直一: 酵素化学シンポジウム, **8**, 49 (1953).
11) F. YOSHIDA: *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, **20**, 252 (1956). 農化, **29**, 175 (1955).
12) K. MORIHARA: *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, **21**, 11 (1957).
13) T. MIZUNUMA, N. IGUCHI: *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, **22**, 35 (1957).
14) 中浜敏雄・今原広次: 農化, **32**, 115 (1958).
15) 福本寿一郎・山本武彦・市川和宏: 農化, **32**, 230 (1958).
16) B. HAGIHARA, H. MATSUBARA, M. NAKAI, K. OKUNUKI: *J. Biochem.* (*Japan*), **45**, 185 (1958).
17) 斎藤恒行・石原義雄: 農化, **30**, 426 (1956).
18) E. R. NORRIS, D. W. ELAM: *J. Biol. Chem.*, **134**, 443 (1940).
19) E. R. NORRIS, J. C. MATHIES: *J. Biol. Chem.*, **204**, 673 (1953).
20) 斗ケ沢宜久・勝又悌三: 本誌, **23**, 157, 163 (1957).
21) R. WILLSTÄTTER, E. WALDSCHMIDT-LEITZ, A. R. F. HESSE: *Z. physiol. Chem.*, **126**, 143 (1923).

魚肉アクトミオシンの粘度に関する研究—I.

アクトミオシンの粘度測定に関する基礎的問題

右田正男・鈴木たね子

(1958 年 1 月 12 日受理)

STUDIES ON THE VISCOSITY OF FISH ACTOMYOSINS—I. SOME FUNDAMENTAL PROBLEMS ON THE VISCOSITY OF ACTOMYOSIN

Masao MIGITA and Taneko SUZUKI*

Some fundamental problems concerning the viscosity of actomyosin were studied by using a tilting viscometer (Fig. 1) designed by WADA[3], in which control of velocity gradient of the flow can be readily practiced simply by changing the position on the supporting plate to which the curved end of the viscometer is fixed. Relative viscosity η_r and velocity gradient $\bar{\beta}$ are calculated from equations (1) and (2) respectively, where t_0 and t_s are efflux times of solvent and solution, respectively. V and R in equation (2) are the efflux volume and the radius of the capillary, respectively.

Viscosity of carp actomyosin solution prepared according to Table 1 was measured at varying velocity gradients ($\bar{\beta}$) and concentrations (c). Some one hour was required for the whole measurement, but the solution proved to be stable at least for one hour at 10°C. (Table 2) and 20°C.

Apparent decrease in viscosity was observed with increasing velocity gradient (Fig. 2), as already reported by many workers with rabbit[1,2] and carp[6] actomyosins. At quite a low velocity gradient ($\bar{\beta} < 100\,\mathrm{sec}^{-1}$), however, η_r showed a fixed value independent of $\bar{\beta}$ at any concentration studied (0.03～0.25%) as illustrated in Fig. 2. This is not concordant with the result obtained by HAMOIR who measured viscosity of carp actomyosin under varying pressures form 0 to 15 cm. of water by means of a capillary tube equipped with an air reservoir. On the other hand, the same results as ours have been obtained with nitrocellulose in butyl acetate and polystyrene in toluene as well as tobacco mosaic virus in water[7]. The reason of the disagreement between the result of HAMOIR and ours is obscure.

Intrinsic viscosity $[\eta]$ of carp actomyosin was determined from η_{sp}/c or $\ln \eta_r/c$ by extrapolating both c and $\bar{\beta}$ to zero and was found to be 2.0～6.0 (Fig. 3). Measuring temperature seemed to exert an influence hardly or but slightly, if any, on intrinsic viscosity of carp actomyosin; $[\eta]=2.5$ at 5°C., and 2.2 at 20°C. were obtained with one and the same preparation (Fig. 5).

Viscosity number $Z_\eta = (2.3 \log \eta_r)/c$ is often conveniently used as a substitute of intrinsic viscosity. Since, however, in carp actomyosin no linearity was found except one out of a dozen cases in the relationship between $\ln \eta_r$ and c at least within our experimental conditions (Fig. 4), viscosity number cannot be a characteristic quantity independent of experimental conditions. Similarly in carp actomyosin at least within our experimental conditions, ATP-sensitivity, $\frac{Z_\eta - Z_{\eta\mathrm{ATP}}}{Z_{\eta\mathrm{ATP}}}$, proposed by PORTZEHL et al cannot be taken significant in characterizing an actomyosin preparation, independently of experimental conditions.

The initial slope of the curve $(\eta_{sp}/c)_{c\to0} \sim \bar{\beta}$ or $(\ln \eta_r/c)_{c\to0} \sim \bar{\beta}$ affords a rough measure

* 東海区水産研究所 (Tokai Reg. Fish. Res. Lab.)

東海区水産研究所業績 B 第 308 号

of the readiness with which the molecules are orientated, that is the shape of the molecule; and the initial slope of the curve $(\eta_{sp}/c)_{\bar{\beta}\to 0} \sim c$ or $(\ln \eta_r/c)_{\bar{\beta}\to 0} \sim c$ offers some knowledge about the extent of intermolecular interaction (cf. Fig. 6).

蛋白のような高分子物質においては，分子の形がその性質をきめる大きな要素となつており，蛋白の変性には分子の変形を伴うことが多い。従つて分子の形を知ることは蛋白の研究における最も重要な手段の一つといえる。

分子の形を比較的簡単に知る方法として粘度の測定がある。粘度は毛細管式粘度計（オストワルドピペットによつて測定されることが多いが，そのさい大きな問題が2つある。第1は試料溶液の濃度によつて粘度の変ること，第2に糸状分子の溶液では更に流速によつても粘度の変ることである。球状またはこれに近い分子の溶液，所謂ニュートン流体では粘度は流速に関係なく，ただ濃度のみに関係する。従つて濃度を0に外挿した時の粘度をもつて，その分子の粘度を代表させることができる。しかしアクトミオシンのような糸状の分子ではその溶液は濃度ばかりでなく流速によつてもそれぞれ異つた粘度を示す。従つてこの点に考慮を払うことなく従来のオストワルドピペットを用いて漫然として出された測定値には普遍性がない。流速の影響を消すためには次の2つの方法がある。(i) 流速を充分大きくして流れの方向に粒子を完全に配向させるか，(ii) 低い流速のところで測定した値を流速0のところに外挿する。アクトミン及びミオシンについてMOMMAERTS[1] や PORTZEHL[2] のとつた方法は (i) によるもので，平均速度勾配 $(\bar{\beta}) > 2000\ \mathrm{sec}^{-1}$ のところで濃度 (c) をかえて，粘度を測定し，ニュートン流体の場合と同様な方法で固有粘度 $[\eta]$ を求める。即ち

$$[\eta] = \lim_{c\to 0}\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{\bar{\beta}>2000} = \lim_{c\to 0}\left(\frac{\ln \eta_r}{c}\right)_{\bar{\beta}>2000}, \qquad \eta_{sp} = \eta_r - 1$$

しかし普通のオストワルドピペットで得られる流速は一般にわれわれが実験に使用する蛋白濃度ではせいぜい $\bar{\beta} = 600\ \mathrm{sec}^{-1}$ であつて，$2000\ \mathrm{sec}^{-1}$ 以上の速度勾配を得るには特に加圧装置を必要とする。但し，同一のオストワルドピペットを用いても濃度がちがえば $\bar{\beta}$ が違うから同じ $\bar{\beta}$ のところの値をはかることは出来ない。

われわれは (ii) にあげた速度勾配を0に外挿し，流速の影響を去る方法をしらべ，和田式傾斜型粘度計[3]を用いることにより比較的簡単にこの目的を達しうることを知つたので，コイのアクトミオシン溶液について，粘度測定に関する基礎条件の吟味を行つた。本報ではこのうち η_r（相対粘度）の $\bar{\beta}$ 依存性，$\eta_{sp}/c \sim c$ 及び $\ln \eta_r/c \sim c$ 曲線の吟味，固有粘度の求め方について検討し，また粘度数の問題，測定温度の影響についてのべる。

実験方法

1. 粘度の測定

傾斜型粘度計‥‥従来のオストワルド粘度計は落差が一定であるから同一濃度の溶液について各種の速度勾配に対応する粘度を求めることは出来ない。傾斜型粘度計はオストワルド型の粘度計に一定の傾斜を与えることによつて流速を変化させることが出来るようにしたものである (Fig. 1)。粘度計に一定の傾斜を与えるには，四分円型の金属板（角度計）の周りに沿つてつけてあるかけ釘に粘度計の下端彎曲部をかけ，鉛のおもりで粘度計をその位置に固定する。

測定のしかた‥‥角度板を恒温槽の中にすえつけ，粘度計に試料蛋白のうすい溶液 5cc を入れ，粘度計の傾斜をいろいろにかえてそれぞれの流出時間をよみとる。次に蛋白溶液の代り

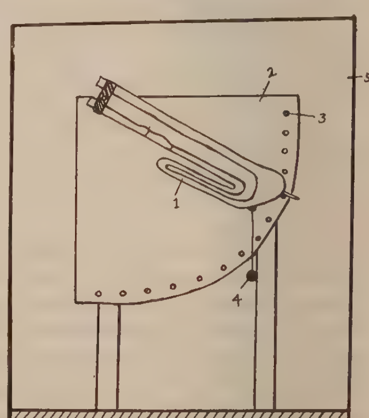


Fig. 1. Tilting viscometer
1…Pipette 4…Weight
2…Supporting plate 5…Thermostat
3…Hanger

に溶媒 (0.6M KCl 溶液) を用いて全く同じことをくりかえし，流出時間をよむ。ある速度勾配における相対粘度 η_r 及びその時の平均速度勾配 $\bar{\beta}$ はそれぞれ (1) 式及び (2) 式によつて求められる。

$$\eta_r = \frac{4/t_0}{3/t_s + t_0/t_s^2} \cdots\cdots (1)^*$$

但し　t_s: 溶液の流出時間

　　　t_0: 溶媒の流出時間

$$\bar{\beta} = \frac{4V}{\pi R^3 t} \cdots\cdots (2)^{3)**}$$

V は t 時間中の流量，R は毛管の半径であつて，それらの値は各ピペットに示されている。同一粘度計を用いれば，R 及び V は一定であるから，$\bar{\beta}$ をきめるのは t である。故に，粘度計をかける角度板の番号を適当に選び，傾斜を変えることによつて t を変え，希望に近い速度勾配を得ることが出来る。

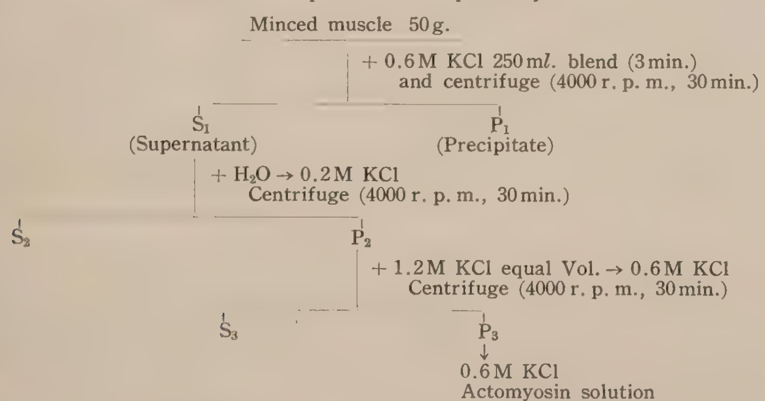
2. 実験材料

常時生きている材料が手に入りやすいという点で，コイを選んだ。

3. アクトミオシンの抽出

水槽中で安静状態に保つたコイを水からあげ直ちに頭を切つて殺し，脊側の骨格筋を切りとり，次のようにして抽出を行つた。

Table 1. Preparation of carp actomyosin



蛋白濃度はビューレット法[4]により測定したが，度々ミクロキエルダール法を併用しビューレット法による値に補正を加えた。

4. 粘度の測定温度

粘度の測定温度は，特に記してないものは 10°C ± 0.5°C である。なお測定温度が粘度に及ぼす影響については実験の項参照。

---

* 理論的には次式[3]が導かれる。

$$\eta_r = \frac{4/t_0}{3/t_s + (1/t_0)\dfrac{d\,1/t_s}{d\,1/t_0}} \cdot \frac{\rho_s}{\rho_0}$$

但し，ρ_s，ρ_0 はそれぞれ溶液及び溶媒の密度である。実験に用いたようなうすい溶液では $\rho_s \fallingdotseq \rho_0$ また $1/t_s$ 及び $1/t_0$ の二次項以上を無視して，$(1/t_0)\dfrac{d\,1/t_s}{d\,1/t_0} = 1/t_0 \times -t_s^{-2}/-t_0^{-2} = t_0/t_s^2$ とすることができる。従つて η_r は (1) 式のようになる。

** (2) 式は元来ニュートン流体についての式であるが，うすい溶液では非ニュートン流体にも適用される。

実　験　結　果

1. 試料溶液の安定性

傾斜型粘度計を用いて溶液の濃度及び速度勾配をかえて一連の測定を行うには約 60 分を要するので，この間に溶液の粘度の変らないことを確めておく必要がある。そこでコイーアクトミオシンの 0.06% 及び 0.20% 溶液を一定時間 10°C に放置した後，その温度で比較的低速度勾配 ($\bar{\beta}=65\sim120$) におけるそれぞれの粘度をみたが，Table 2 に示すように，実験条件の範囲では殆んど変りがない。溶液濃度 0.12%，放置及び測定温度 20°C とした別の実験においても同様の結果がえられた。即ち，コイーアクトミン溶液は傾斜型粘度計によつて粘度の測定を行うに充分の安定性をもつている。

Table 2. Chang of viscosity during storage of carp actomyosin solution
Temp. 10°C

Concentration	Time of storage	β	η_r
0.20%	0	100 65	5.49 5.69
	15 min.	100 65	5.40 5.69
	30 min.	100 65	5.46 5.69
	60 min.	100 65	5.40 5.69
0.06%	0	120 90	1.82 1.82
	30 min.	120 90	1.82 1.82
	60 min.	120 90	1.82 1.82

2. 粘度の速度勾配依存性

コイーアクトミオシンを 0.13，0.10，0.05% の三種類の KCl 溶液とし，各濃度につき速度勾配をいろいろに変えて相対粘度を測定すると，ウサギやコイのアクトミンについての既往の実験結果から予期されるように，η_r は $\bar{\beta}$ が高くなるにつれて低くなること，蛋白濃度が濃いものはうすいものに比べて $\bar{\beta}$ に対する依存性が顕著であるという結果がえられた (Fig. 2)。

1 本の傾斜型粘度計で得られる速度勾配の範囲はその管径と溶液の濃度できまつてしまうので，$\bar{\beta}$ のごく低いところの測定はできないが，適当な管径の粘度計をえらび組合せて用いることによつて $\bar{\beta}$ 40 位から測定が出来る。そのようにして非常に低い速度勾配における相対粘度を求めると $\bar{\beta}$ が非常に小さいところではもはや流速に影響されずに一定の η_r が得られる (Fig. 2)。

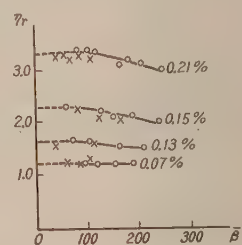


Fig. 2. Relation between η_r and velocity gradient with carp actomyosin solution. Horizontal parts of the curves are shown at shear rates below 100 sec⁻¹

○×…Two different pipettes.
×…Radius of capillary　0.376 mm.
○…　　〃　　0.438 mm.
Solvent…0.6 M KCl;　Temp.…5°C

3. コイーアクトミオシンの固有粘度

ニュートン流体の粘度は濃度によつて変るが，流速には関係がない。従つてその固有粘度 $[\eta]$ は

$$[\eta]=\lim_{c\to0}\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)=\lim_{c\to0}\left(\frac{\ln\eta_r}{c}\right)\qquad \text{但し，}\eta_{sp}=\eta_r-1\ (c\ \text{は g/100ml})$$

と定義され，$\eta_{sp}/c\sim c$ 曲線または $\ln\eta_r/c\sim c$ 曲線を $c\to0$ に外挿することによつてもとめられる。しかるにアクトミオシン溶液の粘度は c のみならず $\bar{\beta}$ の如何によつても違うので，その固有粘度は c 及び $\bar{\beta}$ を 0 に外挿したときの η_{sp}/c または $\ln\eta_r/c$ の値をとるべきである。

$$[\eta]=\lim_{\substack{c\to0\\ \bar{\beta}\to0}}\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)=\lim_{\substack{c\to0\\ \bar{\beta}\to0}}\left(\frac{\ln\eta_r}{c}\right)$$

それにはまず各濃度について $\bar{\beta}\to0$ における η_r を求めねばならないが，市販の傾斜型粘度計では，0.05%

程度のうすい溶液については $\bar{\beta}<40$ の測定ができず，0への外挿に正確を期し難い。ところが非常に都合のいいことに，この実験に用いる濃度の範囲では大体 $\bar{\beta}$ が 100 以下になると，上述のように流速に関係なく一定の η_r がえられる。そこで $\bar{\beta}$ の低いところで数点 η_r を測定し，η_r が $\bar{\beta}$ に依存しなくなつた点における η_r を $\bar{\beta}\to 0$ における η_r とみてさしつかえないであろう。そのようにして各濃度について求めた η_r から η_{sp}/c または $\ln\eta_r/c$ を c に対して図示し，$c\to 0$ の値をとつて $[\eta]$ とする。この外挿のさい $\eta_{sp}/c\sim c$ 曲線，$\ln\eta_r/c\sim c$ 曲線の何れを用いても同一の結果になるが，今回行つた多くの実験では $\eta_{sp}/c\sim c$ 関係は常に Fig. 3 にみられるように曲線となつたが，$\ln\eta_r/c\sim c$ 関係は多くの場合大体直線に近いので，外挿値を求めるに便利である。

このようにして求めたコイーアクトミオシンの $[\eta]$ は試料により著しい差があり，2.0〜6.0 の間にあつた。

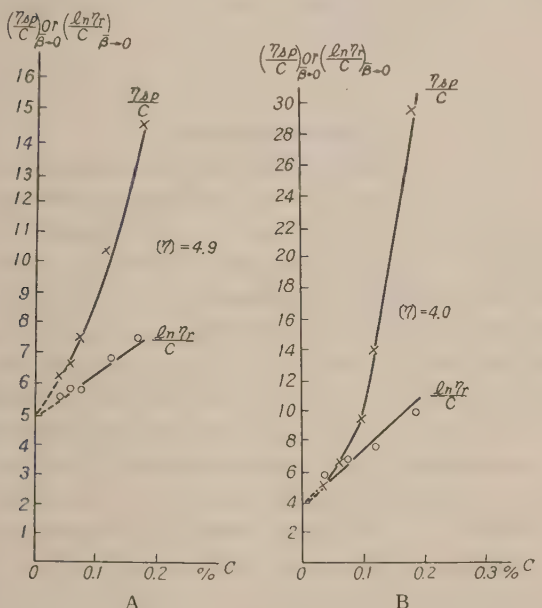


Fig. 3. Relation between $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{\bar{\beta}\to 0}$ or $\left(\frac{\ln\eta_r}{c}\right)_{\bar{\beta}\to 0}$ and concentration. Intrinsic viscosities are obtained by extrapolating c to zero.
A, B……Two different samples.
A… $[\eta]=4.9$ B… $[\eta]=4.0$

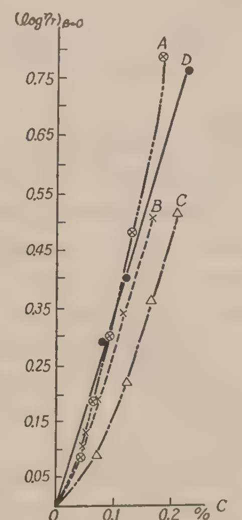


Fig. 4. Relation between $(\log\eta_r)_{\bar{\beta}\to 0}$ and concentration.
Curve: A…Exp. on 6th Oct.; B…2nd Oct.; C…24 th Sept.; D…1st June (Rectilinear relation)

4. コイーアクトミオシンの粘度数 (Z_η)

$[\eta]$ を求めるためには 4〜5 点の濃度について $(\eta_r)_{\bar{\beta}\to 0}$ を測定しなければならない。そこで簡便法としてただ一つの濃度について測定した値をもつて試料の粘度を代表させるために粘度数 (Viscosity number) $Z_\eta=2.3\log\eta_r/c$ (c は mg/ml) がしばしば用いられている。但し Z_η がこの目的に用いられるためには，$2.3\log\eta_r=K\cdot c$ という関係が成立することが必要である。コイーアクトミオシンについてこの条件が満足されているかどうかを検討した結果は，Fig. 4 に示すとおりである。速度勾配の影響をたつために $(\eta_r)_{\bar{\beta}\to 0}$ をとつてある。図に明らかなように，直線関係のえられた一例もあつたが，$\ln(\eta_r)_{\bar{\beta}\to 0}\sim c$ の関係は一般には曲線となり Z_η は測定濃度によつてちがつてくる。例えば，Fig. 4 の曲線 A の試料については Z_η の値は測定濃度 0.18〜0.05% の間で，1.0 から 0.44 の間でかわり，曲線 B の試料では 0.17〜0.05% の濃度

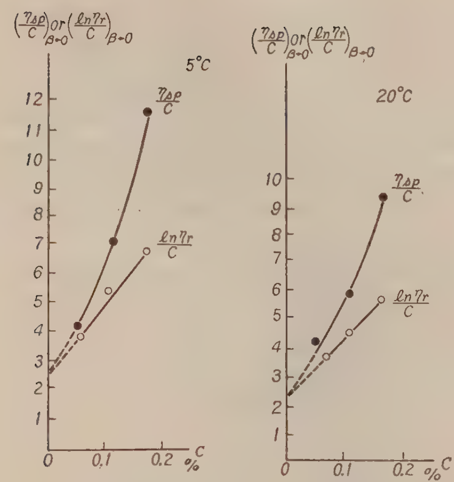


Fig. 5. Difference in intrinsic viscosity at 20°C and 5°C

範囲で 0.74〜0.54 の差異がある。このような場合には特に Z_η を求める意味はない。

5. 測定温度の影響

粘度の測定を 20°C と 5°C で行つた場合，(i) $[\eta]$, (ii) $\eta_{sp}/c \sim c$, $\ln \eta_r/c \sim c$ の関係に変化があるかどうかを検討した。その結果は Fig. 5 にみられるごとく同一試料について 20°C で測定したものは $[\eta]=2.2$, 5°C で測定したものは $[\eta]=2.5$ である。$\eta_{sp}/c \sim c$, $\ln \eta_r/c \sim c$ の関係をみると 20°C における場合と，5°C の場合と，その傾向が全く同じでただ 20°C の場合がいく分 $[\eta]$ の値が低いのみである。

考　　察

1. 粘度の速度勾配依存性

速度勾配があまり小さくない範囲 ($\bar{\beta}>100$) におけるアクトミオシンの速度勾配依存性については，既に多くの実験[1,2,5]があり，いずれも同様な結果がえられているので問題はない。しかし速度勾配のごく低いところ ($\bar{\beta}<100$) での実験はきわめて少いばかりでなく，実験条件や計算の基礎の明記されていないものが多く論議の対象となしうるものは，われわれの見た文献の中では，HAMOIR[6] がコイーアクトミオシンについて行つたもののみである。しかし HAMOIR の結果とわれわれの結果 (Fig. 2) とは一致していない。HAMOIR は毛管に空気溜めをつなぎ，水柱で 0〜15 cm までの間の圧を加えうるようにした粘度計を用い，約 0.1〜0.2% 溶液について最低 10〜25* sec^{-1} (液の濃度によつて異なる) の $\bar{\beta}$ のところまで測定している。それによるといずれの濃度においても $\bar{\beta}$ が小さくなるほど η_r の $\bar{\beta}$ への依存度 ($\eta_r \sim \bar{\beta}$ 曲線の傾斜) は大きくなつている。従つて $(\eta_r)_{\bar{\beta}\to0}$ は $(\eta_r)_{\bar{\beta}=25}$ に比べ，0.1% 以下の溶液でも幾分大きく，0.15% 以上では著しく大きくなつている。ところがわれわれの実験結果 (Fig. 2) では $c=0.07\sim0.20\%$ の溶液についていずれも $\bar{\beta}<100$ 以下では η_r の上昇はみられず，一定値におちつく傾向がはつきりみられる。

粘度$-\bar{\beta}$ 曲線が $\bar{\beta}$ のごく小さいところで平になることは硝酸セルローズ (酢酸ブチル溶液)，ポリスチレン (トルエン溶液) のような非電離性高分子について，またタバコモザイクヴィールス (水溶液) のような蛋白についても観察されている[7]。HAMOIR とわれわれの実験結果の不一致の理由は不明であるが，われわれと同様の結果をえている上記の実験ではいずれも傾斜型粘度計が用いられているので，あるいは粘度計の相異によるものかとも考えられるが，これは単なる想像の域を脱しない。

2. 粘度数 Z_η について

粘度数 $Z_\eta=2.3 \log \eta_r/c$ なる量が測定条件に左右されないアクトミオシンの粘度を示す量であるためには，粘度が速度勾配の影響を受けないような条件の下で測定された η_r について $\log \eta_r = K\cdot c$ なる関係が満足されなければならない。ウサギーアクトミオシンについて，MOMMAERTS[1] は $\bar{\beta}=1500\sim2000$, PORTZEHL[2] 等は $\bar{\beta}=2000$, 即ち，蛋白粒子が流れの方向に完全に配向した状態で，また HAMOIR[6] はコイーアクトミオシンについて $\bar{\beta}\to0$ でこの関係を認めている。しかしくり返し行つたわれわれの実験によると，コイーアクトミオシンは原料とした魚による相異 (個体差，季節等) が著しいためであろう一般には直線関係が認められなかつた。従つて，コイーアクトミオシンについては，これを特徴づける 1 つの量として粘度数を求めることは意味はないといえる。なお HAMOIR[6] は魚の冷凍期間 (2〜65 日)，抽出時間 (10 分〜1 時間) を異

* HAMOIR は $\bar{\beta}$ の計算に KROEPELIN の式 $8V/(3\pi r^3 t)$ を用いているので，われわれの用いた $V/(4\pi r^3 t)$ なる式によると，15〜37 となる。しかしこの数字の差はここでは問題でない。

にしたコイーアクトミオシン試料について濃度 0.05〜0.5% の間で $\log \eta_r$ と c との関係はただ1本の直線によつて表わされることをみている。但しこの場合速度勾配は濃度によつて 90 から 800 の間で測定の度にちがつている。従つて，この結果の示す事実そのものは，興味ふかいが，これから計算された Z_η は，はつきりした物理的意味をもつていない。

粘度数はまたアクトミオシンを特徴づける一つの量として PORTZEHL 等によつて提唱された **ATP-sensitivity** なる量の算出にも用いられる。

$$\text{ATP-sensitivity} = \frac{Z_\eta - Z_{\eta\text{ATP}}}{Z_{\eta\text{ATP}}}$$

ここに Z_η 及び $Z_{\eta\text{ATP}}$ はそれぞれ ATP を加えた前後における溶液の粘度数である。この量が広く用いられるのは，提唱者のいうように“粘度数は蛋白濃度に無関係であるから，簡単に ATP に対する感受性を比較できる”ためである。しかしそのためには，Z_η は測定条件（濃度，速度勾配）の影響を受けないような量でなければならない。上述のようにコイーアクトミオシンについては一般に Z_η は濃度に無関係ではなく，ウサギーアクトミオシンについては $\bar{\beta}$ が特に大きい場合は問題ないが，OSTWALD ピペットで簡単に求めうる η_r について，$\log \eta_r = K \cdot c$ の関係が成立つか否かをしらべた文献は見当らない。今後検討の要があろう。

3. 粘度〜濃度，粘度〜速度勾配曲線の意義

濃度が高くなると粘度が著しく増すのは分子間の相互作用によるもの，また粘度が速度勾配の影響を受け易いものは，廻転ブラウン運動の比較的小さいこと，即ち分子の長さの大きいことに関係があると考えられている。この考えによると，$[\eta]_{\substack{c\to 0\\ \bar{\beta}\to 0}}$ は分子が分子間の相互作用や流れの方向への配向の影響をうけず，ブラウン運動のみによつて乱雑な (random) 状態にあるときの即ち測定条件に左右されぬ粘度を示すものとして重要なことはいうまでもないが，これを求める手続きとしてえられる $\eta_r \sim c$ 及び $\eta_r \sim \bar{\beta}$ の関係もまた前者は溶質分子の分子間の相互作用を，後者は分子の配向性の大小（主として分子の不均斉度の大小によつてきまる）を示すものとして重要な意味がある*。

そこで ZIMM が散乱光の強さが溶液濃度及び散乱方向に依存する有様を示した所謂 ZIMM plot にならつて，各濃度における粘度の $\bar{\beta}$ 依存性と各 $\bar{\beta}$ における濃度依存性を 1 つのグラフに表わすと便利である。その場合，粘度を表わすに η_{sp}/c または $\ln \eta_r/c$ をもつてすると図上に固有粘度をも示すことができる。

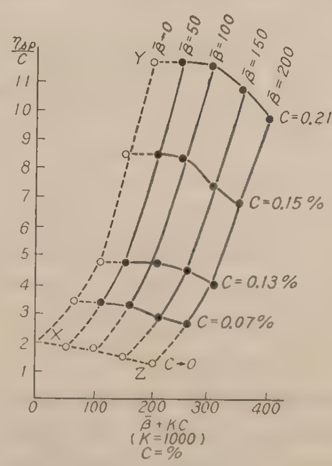


Fig. 6. Viscosity $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)$ plot for various $\bar{\beta}$ and concentrations.

Fig. 6 は，Fig. 2 に示したデーターに基いて $\eta_{sp}/c \sim \bar{\beta} + K \cdot c$ なる関係を図示したものである。ここに K は任意の恒数であるが，用いた濃度範囲では $K = 1000$ とするのが便利である。図において横に走る曲線は各濃度における粘度の $\bar{\beta}$ 依存性を，縦に走る曲線は各 $\bar{\beta}$ における粘度の濃度への依存性を示している。点線 XY はそれぞれの濃度における η_{sp}/c を $\bar{\beta}\to 0$ に外挿したときの値を連らねた線，同様に XY はそれぞれの $\bar{\beta}$ における η_{sp}/c を $c\to 0$ に外挿したときの値を連らねた線である。したがつて，XY が縦軸を切る点は，η_{sp}/c をまず $\bar{\beta}\to 0$ とし，次に $c\to 0$ としたときの値，XZ が縦軸を切る点は η_{sp}/c をまず $c\to 0$ とし，次に $\bar{\beta}\to 0$ としたときの値で何れも，$[\eta]_{\substack{c\to 0\\ \bar{\beta}\to 0}}$ を示すので，両線が縦軸を切る点は一致する。

なお XZ 及び XY 曲線は次のような重要な物理的意味をもつている。曲線 XY は $\bar{\beta}\to 0$ 即ち流速の影

* 固有粘度の値は大体同じでも，$\eta_r \sim c$，$\eta_r \sim \bar{\beta}$ 曲線が著しくちがう場合もある。

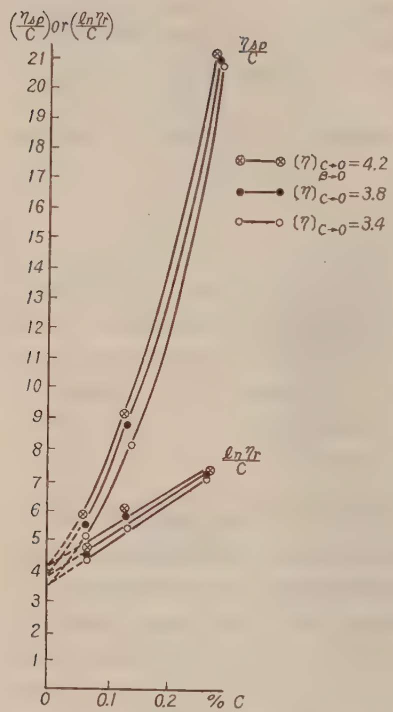


Fig. 7. Variation of intrinsic viscosity $\left(\left[\frac{\eta_{sp}}{c}\right]_{c\to0} \text{ or } \left[\frac{\ln\eta_r}{c}\right]_{c\to0}\right)$ with different shear rates.

響が全くない場合に分子間の相互作用が濃度によつていかに変るかを示す。従つて XY 曲線の傾斜は粒子の相互作用の大小を定性的に示す。曲線 XZ は $c\to0$ 即ち分子間の相互作用の影響が全くない場合に粒子の配向され易さが流速によつていかに変るかを示す。粒子の配向され易さは分子の不均斉度の大なるほど，またブラウン運動に比し流速の大なるほど著しい。従つて，不均斉粒子においては XZ は一般に下降曲線となり，粒子が配向され易いほどこの曲線の傾きは大きく，球状分子では水平になる。ブラウン運動は粒子が流れの方向に配向されるのを妨げるように働く，しかしてブラウン運動の強さは粒子の長さが増すと著しくへる(ほぼ長さの 3 乗に反比例する)。従つてたとえ粒子の形がかなり不均斉な場合でも，粒子が小さい場合には配向され難いこともある。従つて XZ 曲線の傾斜から粒子の不均斉度なり長さなりを一義的に結論することはできないが，上記の範囲内において，粒子の形について大ざつぱな智識をうることはできる。

結　　論

粘度の測定は簡単であるが，論議のない値を出すことは決して容易ではない。このことはかつてIUPAC*の高分子委員会の企画した協同研究で，同一標準試料について世界第一流の高分子研究室 10 数カ所で測定された結果[8]をみても明かである。即ち第 1 回の試みのときは結果に満足な一致が見られず，第 2 回には一般的にみて良好な結果がえられたが，なお研究室の間でポリスチレンの $[\eta]_{c\to0}$ の値にトルエン溶液では最高 4%，メチル・エチル・ケトンでは最高 9% の差がでている。この原因の 1 つとして試料は同一のものであるが，各研究室で用いる粘度計や試料溶液の濃度はまちまちであるためにおこる各測定のさいの速度勾配の相異にもとずく影響も無視することはできない**。このことはわれわれが，コイーアクトミオシンの同一試料について $[\eta]_{c\to0,\,\beta\to0}$ を求めると 4.2，$\bar{\beta}$ を考慮に入れないで $[\eta]_{c\to0}$ を求めると 3.2，次に同じ粘度計の傾斜をつよくして（液の流出時間を大きくして）はかると 3.8 なる値をえたことから推察できる。(Fig. 7)

粘度の変化によつて蛋白溶液の変化を追う場合は簡便法としてできるだけ低い速度勾配の得られる同一粘度計を用い大体同濃度のごくうすい溶液***について粘度をはかつても定性的には一応の結果がえられるかも知れないが，特に試料を特徴づける量の 1 つとして粘度をはかるときは，非ニュートン体においては面倒でも $[\eta]_{c\to0,\,\beta\to0}$ を求めるべきである。しかも $[\eta]_{c\to0,\,\beta\to0}$ を求める手続の途中にえられる $[\eta]_{\beta\to0}\sim c$，及び $[\eta]_{c\to0}\sim\bar{\beta}$ 曲線からそれぞれ分子の相互作用及び粒子の不均斉度について大ざつぱな智識をうることもできる。

---

* International union of Pure and Applied Chemistry

** 測定溶液の濃度の差に基く分子間相互作用の影響は $c\to0$ の値をとつてあるから消されていること。

*** 濃度がごく小さければ，速度勾配の粘度に及ぼす影響は小さい (Fig. 2 参照)。但し濃度が余り少さいと粘度の測定誤差が大きくひびいてくる。

要　　約

傾斜型粘度計を用いて，種々の濃度のコイーアクトミオシン 0.6M KCl 溶液調製直後の粘度を速度勾配をいろいろに変えて測定し，粘度測定に関する基礎問題を検討した。

1. コイーアクトミオシン 0.6M KCl 溶液は調製後約 10°C 及び 20C° に放置した場合，数時間は全く粘度の変化がみとめられなかつた。

2. 蛋白濃度 0.03〜0.25% の範囲で実験した結果いづれの濃度に於ても，$\bar{\beta}$ が高くなるにつれて粘度の低下がみられるが，$\bar{\beta}$ が非常に小さいところ ($\bar{\beta} < 100\ \mathrm{sec}^{-1}$) では相対粘度は $\bar{\beta}$ に依存せず一定になる。

3. 固有粘度 $[\eta]$ を $(\eta_{sp}/c)_{\substack{c\to 0\\ \bar{\beta}\to 0}}$ 或は $(\ln \eta_r/c)_{\substack{c\to 0\\ \bar{\beta}\to 0}}$ によつて求めると，コイーアクトミオシンについて $[\eta]=2.0\sim 6.0$ が得られた。

4. コイーアクトミオシンにおいて一般に $\log \eta_r$ と c の間に直線関係がない。したがつて Viscosity number　$Z_\eta = 2.3 \log \eta_r/c$ をもとめても意味がない。

5. 測定温度 20°C と 5°C とで $\eta_{sp}/c \sim c$, $\ln \eta_r/c \sim c$ 等の関係に根本的な差違は見出せず，ただ 20°C の方が 5°C より $[\eta]$ がわずかに低い。

6. $(\eta_{sp}/c)_{c\to 0} \sim \bar{\beta}$ または $(\ln \eta_r/c)_{c\to 0} \sim \bar{\beta}$ 曲線の初期傾斜から分子の配向され易さを，また $(\eta_{sp}/c)_{\bar{\beta}\to 0} \sim c$ または $(\ln \eta_r/c)_{\bar{\beta}\to 0} \sim c$ 曲線の初期傾斜から分子間の相互作用の大きさをそれぞれ定性的に知ることができる。

文　　献

1) W. F. H. M. Mommaerts: *Arkiv. Kemi. Mineral. Geol.*, **19**, No. 17, 1〜20 (1945).
2) H. Portzehl et al: *Z. Naturforsch.*, **5b**, 61 (1950).
3) 黒岩章晃・和田英一: 実験化学講座 **8**, 高分子化学 (上), 167〜176.
4) 松本重一郎・金光庸俊: 日水会誌, **21**, 284〜8 (1955).
5) J. T. Edsall and J. W. Mehl: *J. Biol. Chem.*, **133**, 409 (1940).
6) G. Hamoir: *Arch. intern. physiol et Biochim.*, **63**, 88〜96 (1940).
7) E. Wada: *J. Polymer Sci.*, 14〜305 (1954).
8) IUPAC: *J. Polymer Sci.*, **15**, 129〜148 (1953); *Ibid.* **17**, 1〜20 (1955).

TRIMETHYLAMINE OXIDE IN FISH MUSCLE
III. THE ORIGIN OF TRIMETHYLAMINE OXIDE IN MARINE FISH MUSCLE

Tomotoshi OKAICHI, Masaya MANABE and Yoshiro HASHIMOTO*
(Received March 13, 1959)

Trimethylamine oxide (TMO) has been found widely distributed in marine fish but more scanty or absent in fresh water fish. Several factors, such as diet, excretion mechanism of nitrogenous compounds and osmotic pressure of body fluids or surrounding medium, have been suggested to be responsible for the one-sided distribution of the base, but little evidence has been obtained on this matter[1]. Recently, OGILVIE and WARREN[2] have reported that TMO may originate in muscle tissue of killifish, *Fundulus heteroclitus*, as a result of two processes, one exogenous and one endogenous in origin.

In our previous works, the occurrence of TMO in two species of fresh water fishes, goldfish[3] and eels[4], was studied, and the base was confirmed to be entirely of exogenous origin. The similar feeding experiment was extended to marine fishes, using carp meat as a TMO-free basal diet. The present paper deals with the results on the globefish, *Fugu niphobles* JORDAN et SNYDER, the filefish, *Monacanthus cirrhifer* TEMMINCK et SCHLEGEL, and the jack mackerel, *Trachurus japonicus* TEMMINCK et SCHLEGEL.

Experimental

Globefish and filefish were kept in our laboratory in the tank of circulatory system, which was described in the previous paper[3], and jack mackerel in the tank of running sea water at the Misaki Marine Biological Station of the University of Tokyo. The temperature of sea water was not controlled in the experiments on globefish and jack mackerel, and ranged from 19° to 24°C in the former and from 24° to 26°C in the latter, while it was adjusted to 22°C in the experiment on filefish. The preparation of diet and the feeding were similary carried out as in the previous works[3], and the fishes were kept in excellent condition and had a good appetite.

The bases, TMO and trimethylamine (TMA), were determined by the modified DYER method[5] and on some specimens also by the cis-aconitic anhydride method slightly modified by SASAKI et al.[6] Total nitrogen in trichloroacetic acid extracts of the ordinary muscle of jack mackerel was also determined by the micro KJELDAHL method. Analysis was done on the muscle of each individual except the red muscle

* Lab. Fish. Chem., Fac. Agr., Univ. Tokyo.

of jack mackerel, which was obtained from 2 or 5 fish and pooled.

Results

1. Globefish.

The fish which were 7.8～9.7 cm in length and 15.5～29.9 g in weight, were obtained from the Kamakura Aquarium at where they had been kept on a diet of fish meat in running sea water. On arrival at the laboratory, the fish were divided into three groups. The first one was fed with the basal diet, the second one the basal diet containing 1% TMO and the last one was kept on fasting. Four fish were removed for analysis at intervals and the results are shown in Fig. 1. The average concentration of TMO in the muscle is 75 mg% at the beginning and the same level is maintained when the fish are on the TMO-free diet for a period of twenty-five days or on fasting for ten days. On the other hand, the level steadily rises up while the fish are on the diet containing TMO and the mean value is 98 mg% on the seventh days and 113 mg% on the fourteenth day. Thus, it is clearly shown that TMO in food is retained in the muscle and that the muscle TMO is maintained in a relatively constant level, even when the base is not supplied from the outside. No appreciable amount of TMA was recognized in all individuals and this is true for filefish and jack mackerel.

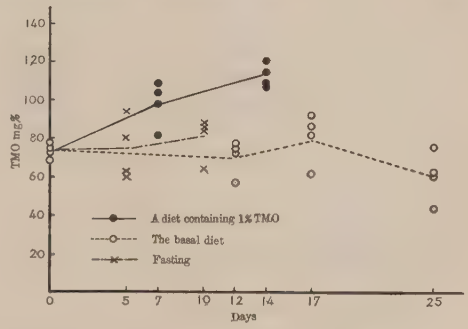


Fig. 1. Trimethylamine oxide in the muscle of globefish.

2. Filefish.

The fish were 7.3～9.5 cm in length and 14.7～30.5 g in weight. The fish, which had been kept on fasting for four weeks at the Misaki Marine Biological Station, were divided into two groups and the one was fed with the basal diet and the other continuously kept on fasting, both at the station for a further period of one week. Then, the fasting group was removed for analysis and the remainder was transferred to the laboratory in Tokyo. There the fish were again divided into two groups and the one was successively fed with the basal diet and the other the diet containing 1% TMO for ten days, which was followed again by the basal diet for twenty days. As shown in Fig. 2, similar results are obtained as those on globefish. The average concentration of TMO in the muscle is about 33 mg% in the fish which have been kept on fasting for four weeks, and this level is maintained by the fish kept on fasting for a further period of one week and also by those fed the TMO-free diet for a further period of seventeen days. The concentration, on the other hand, becomes four times

higher when fish are on the diet containing the base for ten days and it is maintained without any decrease during the successive feeding of the TMO-free diet for twenty days.

Table 1. Values obtained by the picrate and cis-aconitic anhydride methods on the TMO content (mg%) in the muscle of filefish.

A: Fish fed the basal diet for one week.
B: Fish of the twenty-seventh day in Fig. 2.

Fish No.	A		B	
	Picrate method	Cis-aconitic anhydride method	Picrate method	Cis-aconitic anhydride method
1	22.5	23.2	126.6	123.4
2	26.4	28.0	105.5	95.0
3	38.9	40.3	97.9	91.0
4	46.6	48.4		

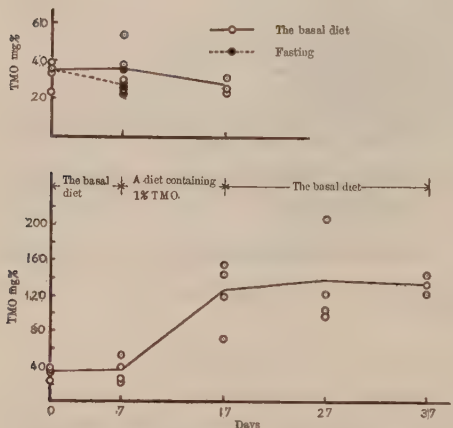


Fig. 2. Trimethylamine oxide in the muscle of filefish.

Some specimens were analyzed by both picrate and cis-aconitic anhydride methods, to ascertain the reliability of TMO estimation. The results are summarized in Table 1. The values obtained by two methods coincide each other fairly well.

3. *Jack mackerel.*

The fish, 10.5~12.7 cm in length and 17.1~37.0 g in weight, were preliminarily fed with the jack mackerel meat for one week in running sea water at the Misaki Marine Biological Station. Then the fish were divided into three groups as described above. The two groups were kept the diets, as shown in Fig. 3 and the other on fasting for three weeks. The results, which are presented in Fig. 3, are considerably different from those of globefish and filefish. After the preliminary feeding of jack mackerel meat for a week, the average content of TMO is 217 mg% in the ordinary muscle and 147 mg% in the red muscle. In the both muscles of the fish fed with the TMO containing diet, there occurs no appreciable change of the TMO level, while it decreases to 170 mg% in the ordinary muscle and to 82 mg% in the red muscle when fish are on TMO-free diet for two weeks. On the other hand, the level of TMO in the ordinary muscle of fasting fish rises steadily up to 321 mg% in three weeks, whereas the effect of starvation is not appreciable in the red muscle. Total nitrogen in the

extracts of the ordinary muscles was also analyzed, as shown in Fig. 4. The curves show that the amount of extractive nitrogen is maintained in a relatively constant level throughout the feeding experiment.

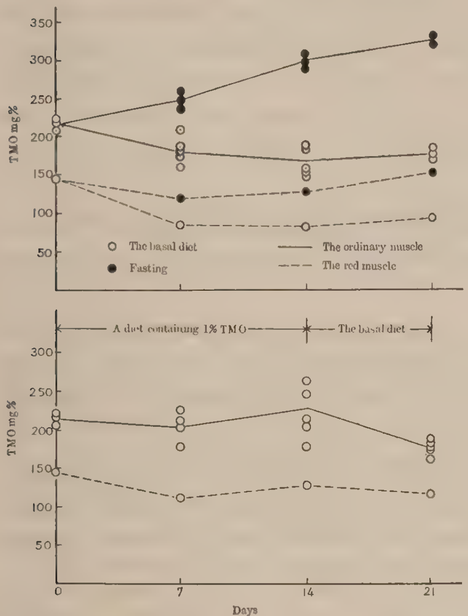


Fig. 3. Trimethylamine oxide in the muscle of jack mackerel.

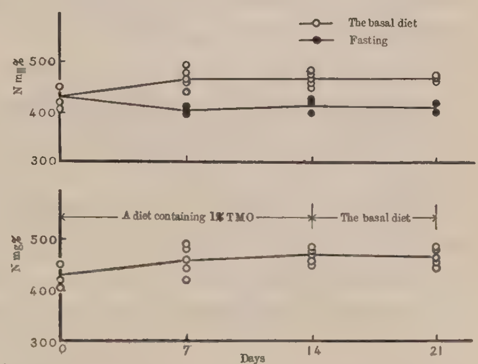


Fig. 4. The total nitrogen in the extracts of the ordinary muscle of jack mackerel.

Discussion

The metabolism of TMO in the muscle of three species of marine fishes, globefish, filefish and jack mackerel, is found significantly different from that in fresh water fishes. The most striking difference exists in the long maintenance of a relatively constant and fairly high level of TMO, even when the supply from the outside is cut off by feeding fish with the TMO-free diet or by keeping them in starvation. The presence of a system to maintain the attained level or to secure the lower limit level of the base may be one of reasons why the marine fishes generally contain a large amount of TMO in the muscle and may lead to the suggestion that the base exerts some physiological function in marine fishes.

The observed significant rise in TMO in the muscle of globefish and especially of filefish when they are on the diet containing TMO may suggest that some of the base in marine fish is exogenous origin. The accumulation is much larger than that of fresh water fish. On the other hand, it is demonstrated that the TMO level in the muscle of jack mackerel is not influenced by the ingestion of TMO and this may be partly due to the history of test animals.

In addition, another striking difference is seen between the two tetrodon fishes and the jack mackerel in the change of the muscle TMO during the starvation. The steady rise of TMO level in the fasting jack mackerel, the phenomenon also observed on killifish by OGILVIE and WARREN[2], is very interesting and may provide an evidence for the endogenous formation to TMO in these fishes. In this case, the percentage of TMO nitrogen to the total extractive nitrogen rises from 9.6 to 14.8% in three-week fasting, as the amount of the latter does not change during the period. The red muscle reveals the slightly different pattern of change in TMO content from the ordinary muscle.

TMA was not detected in all specimens, differing from the case of goldfish reported by the present authors and of the red muscle of frigate mackerel, *Auxis tapeinosoma* BLEEKER by KAWABATA[7].

Some individual variation of the TMO content was observed in the specimens analyzed at the same time as shown in figures, perhaps due to the unevenness in size of test animals, but it would exert little or no influence on conclusions in the present study.

The picrate method, a most common determination method of TMA in fish muscle, has been known to respond to other amines than TMA, but the values obtained by this method agreed well with those by the cis-aconitic anhydride method, which is considered to be specific to tertiary amines.

Summary

The most striking difference in the metabolism of TMO between fresh and marine fishes was found in the long maintenance of a relatively constant and fairly high level of the base by the latter, even when the supply from the outside was cut off. Some of TMO in the muscle of marine fish was also confirmed to be of the exogenous and of the endogenous origins.

Acknowledgement

The authors wish to express their thanks to Prof. Y. SUMIKI for his kind advice, and are indebted to Prof. Y. OSHIMA, Messrs. N. ISHIWATA and F. YASUDA in obtaining fishes.

Reference

1) DYER, W. J.: *J. Fisheries Research Board Can.*, 8, 314, (1952).
2) OGILVIE, M. G. and WARREN, A. A.: *Can. J. Zool.*, **35**, 735 (1957).
3) HASHIMOTO, Y. and OKAICHI, T.: *This Bull.*, **24**, 640 (1958).
4) HASHIMOTO, Y. and OKAICHI, T.: *ibid.*, **24**, 645 (1958).
5) HASHIMOTO, Y. and OKAICHI, T.: *ibid.*, **23**, 269 (1957).
6) SASAKI, R. and FUJIMAKI, M.: *J. Agr. Chem. Soc. Japan*, **27**, 420 (1953).
7) KAWABATA, T.: *This Bull.*, **19**, 505 (1953).

かまぼこにおける蛋白・油・水系の研究—II.
油の混入による足の変化と魚種*

池内常郎・清水亘**

(1959 年 3 月 23 日受理)

STUDIES ON PROTEIN-OIL-WATER SYSTEM IN KAMABOKO—II. CHANGE OF JELLY STRENGTH BY ADDING OIL IN KAMABOKOS MADE FROM DIFFERENT SPECIES OF FISH

Tuneo Ikeuti and Wataru Simidu**

When oil was added to Kamaboko, a fish cake, made from fresh fish meat for the purpose of improvement of its quality, the jelly strength was not affected so much, as far as the amount of oil did not exceed the proportion of about 20%. On the other hand, when the amount of added-oil exceeded this limit, the strength dropped down suddenly. It was considered that when the amount of added-oil was within the proportion of about 20%, the oil might be enclosed safely in the net-work of fish meat protein in the state of stable oil-water emulsion, but beyond this limit, the emulsion be broken down, or the oil overflowed through the net-work of Kamaboko, so that the strength decreased.

This tendency is found among different fishes, while Kamabokos made from them are unlike one another in jelly strength. And the decrease of jelly strength in excess of oil-content over the limit, differs also in extent with species of raw fish.

さきに[1] かまぼこは油を混入すると足に変化がおこることを報告したが，その変化は魚種によつて異るだろうと思われる。それを検討するためにシログチ Argyrosomus argentatus Houttuyn, トビウオ Cypselurus agoo Temminck & Schlegel およびワニエソ Saurida tumbil (Bloch) の代表的な 3 種を用いて試験した。

実験方法

シログチは以西底引網で漁獲され，氷蔵輸送されたもの，トビウオおよびワニエソは舞鶴近海で漁獲され漁獲後数時間を経過したと思われる，きわめて新鮮なものであつた。冷却しながら採肉，水晒し，脱水，挽肉して 30 分間（シログチは 25 分間）擂潰し，水分を 80% とみて（実際はシログチ 82.0%，トビウオ 81.2%，ワニエソ 79.0% であつた），濃度が 4% となるように食塩を加えてさらに 5 分間擂潰し，その一定量にダイズ油を攪拌しながら滴滴加えて混和した。成形して 18°～21°C に 1 時間（トビウオは 23°C，40 分間）放置したのち 100°C で 20 分間蒸煮した。1 夜放置後志水・清水[2] の方法で破断応力および破断伸張を測定し，それからヤング率および足の強さを計算した。

すり身の pH はシログチおよびトビウオは 6.0，ワニエソは 5.8 で，油添加前の含油量はシログチ 1.65%，トビウオ 0.22%，ワニエソ 0.72% であつた。添加ダイズ油の特数は比重 0.916 (27.5°C)，ヨウ素価 136.1，けん化価 208.4，酸価 1.78 を示した。

---

* 1955 年 10 月 28 日，日本水産学会で発表。
** 京都大学農学部水産学教室 (Dept. Fish., Kyoto Univ.)

実験結果および考察

実験結果は Fig. 1 のとおりである。図によれば，足の強さは魚種によりそれぞれ異るが，油の添加による製品の物理的性質の変化は3種の魚種ともほとんど同じような傾向が示されている。すなわち添加油量が20% くらいまでは油の添加によつて製品の性質がほとんど変化しないか，または変化してもわずかであるが，この限界を越すと急激に変化して組織の崩壊が起つたことを思わせる。このとき外観的にも油が組織から遊離するのがみられた。その限界および変化の傾向は各魚種ともほとんど差がない。

しかし変化の程度については魚種によつてそれぞれ特徴があり，なかでもエソは添加油量の限界を越すときわめて急速に足が落ちる。エソは新鮮なうちはひじように足の強い原料であるのに，古くなると急に足を落す性質があるが[3]，そのこととなにか関連があるのかもしれない。

ところで，すり身に油を添加すれば魚肉蛋白を安定剤とした水中油滴型の乳濁液 (emulsion) が形成されるであろう。このさい魚肉蛋白の保護膠質性および界面活性が乳化に重要な役割を果すことは当然考えられる。もちろん乳濁液の安定度はこのほかにも添加油の分散度，pH 等多数の因子がこれに関与することは明らかであろうが，これらが一定ならば蛋白の性質が決定的な因子になるはずである。もし乳濁液の安定度がすり身を加熱したとき生成するかまぼこの足および保油性に影響するものとすれば，魚肉蛋白の性質，したがつて魚の種類や鮮度が関係するであろう。

いずれにせよ，正常なすり身（少くとも新鮮な魚肉で作つた場合）では 20% 程度の油を添加してもすり

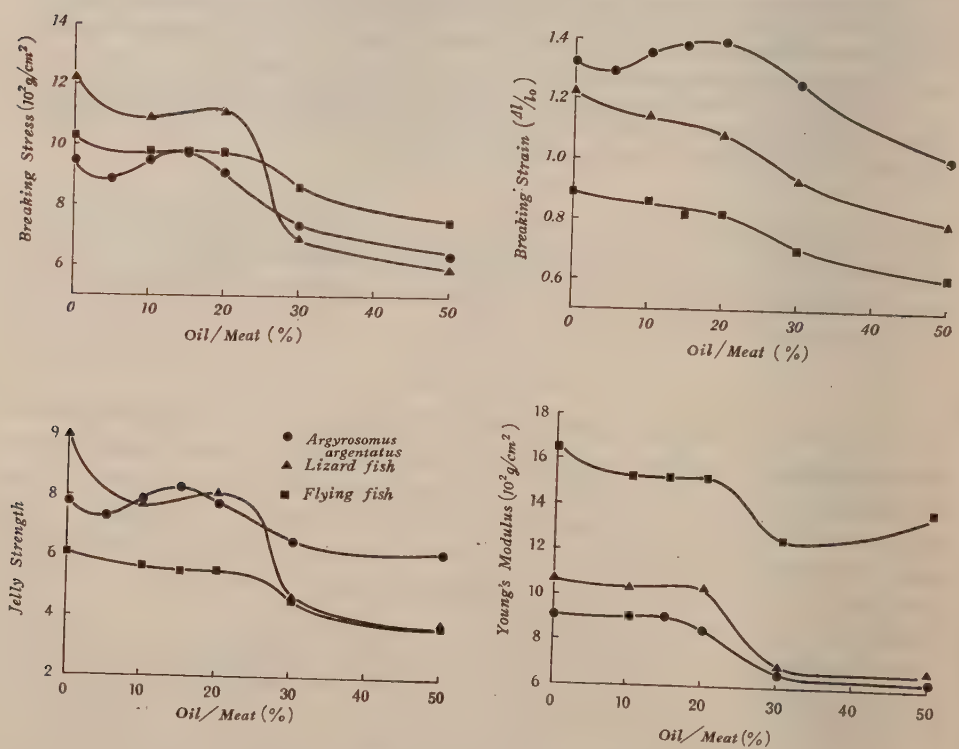


Fig. 1. The effect of added-oil on the elastic properties of Kamabokos made from quite fresh fish.

身は安定に保たれ，加熱したとき油を遊離することなく，また足もほとんど落ちない。そしてこの限度を越すと油を遊離し，足が急速に落ちることが観察された。おそらく過剰の油があふれ出るためであろう。

要　　約

（1） 新鮮な魚肉のすり身に油を添加しても，ある添加量以内では製品の足が保たれる。しかしその限度（魚種によらず約 20%）を越すと急に落ちることが観察された。

（2） 添加油量が限度を越したとき足が落ちる程度は魚種によつて異り，エソはとくに急激であつた。

文　　献

1) 池内常郎・清水　亘： 日水会誌，**20**，814 (1955).
2) 志水　寛・清水　亘： 日水会誌，**19**，596 (1953).
3) 清水　亘： 蒲鉾，生活社，東京，(1944)，pp. 92； 志水　寛・池内常郎・清水　亘： 日水会誌，**20**，811 (1955).

かまぼこにおける蛋白・油・水系の研究—III.
油の混入による足の変化と鮮度*

池 内 常 郎・清 水 亘**

(1959 年 3 月 23 日受理)

STUDIES ON PROTEIN-OIL-WATER SYSTEM IN KAMABOKO—III. EFFECT OF FRESHNESS OF RAW FISH TO JELLY STRENGTH OF KAMABOKO CONTAINING OIL

Tuneo IKEUTI and Wataru SIMIDU**

It is true only in the case of Kamaboko, a fish cake, made from quite fresh fish that the jelly strength never decrease by adding oil within a proportion of about 20%, as reported in our previous paper. In Kamaboko made from less fresh fish, the strength was found to decrease with the increase of oil content.

We found also that a large amount of added-oil for Kamaboko, about 50%, was never liberated from the tissue of Kamaboko made from quite fresh raw fish, but when the freshness of the fish decreased, as little an amount of oil as 15% could not be retained in the tissue.

かまぼこに油を添加しても，ある限度までは足が落ちないこと，また添加油の量がある限度を越すと油が組織から遊離するが，油量がある限度以内では油の遊離が起らないという事実が前報で知られた。この油の安定性には魚肉蛋白が関与していると思われる。すなわち蛋白は乳化剤として働き，油を水中油滴型の乳状液とするとともに，すり身が加熱されるとき網状組織を形成して油をその組織内に包蔵して油の遊離を防止する役割を果すであろう。もしこの推定が正しければ魚肉の鮮度によつて油の添加によるかまぼこの足の変化に差を生ずるはずである。魚肉は鮮度によつてその蛋白の性質が変化し，乳化剤としての性能も，網状組織形成能もともに影響を受けるからである。

本報はその点を明らかにするために行つた実験結果の報告である。

実 験 方 法

新鮮なワニエソ Saurida tumbil (BLOCH) を氷で冷却しながら採肉，挽肉し，氷塊の存在下で 30 分間擂潰し，水分を 80% とみなして（実際は 79.0% であつた），濃度が 4% になるように食塩を加えて，さらに 5 分間擂潰し，その一定量にいろいろの量のダイズ油を攪拌しながら滴滴混和し成形した。成形後室温 (21°C) に 1 時間放置してから 100°C で 20 分間蒸煮し，1 夜放置後志水・清水[1]に従つて破断応力および破断伸張を測定し，ヤング率および足の強さを計算した。

同じすり身を 24 時間 (2nd day) および 48 時間 (3rd day)，5°C で貯蔵したものについて上記とどうように操作して第 1 日目のものと比較した。すり身の pH は初日 5.8，2 日目 5.8，3 日目 6.0（いずれも MR による）で，含油量は 0.72% であつた。

---

* 1955 年 10 月 28 日，日本水産学会で発表。

** 京都大学農学部水産学教室 (Dept. Fish., Kyoto Univ.)

実験結果および考察

実験結果は Fig. 1 のとおりである。破断応力も破断伸張もともに鮮度が落ちるに従つて低下し，従つて足も落ちている。これに油を添加したものでは，すり身が新鮮な間は，油の添加によつて多少の足の低下はみられるが，大きい変化ではなく，油量が 20% を越してはじめて急激に低下する。このように新鮮なすり身においては油量がある限度に達するまでは油の添加により足の強さに大きい変化が起らないことはすでに前報で報告したとおりであるが，すり身の鮮度が落ちたものでは，添加油量が増すに従つて足が落ち，しかもその変化が急激になる傾向がみられる。

また鮮度のよいすり身では添加油量が 50% のものでも，加熱後に足の低下はまぬがれなかつたにしてもなお油が乳化状に保持され，かまぼこ組織から油を遊離するようなことはなかつたが，鮮度が低下すると添加油量がはるかに少くても油を遊離し，しかもそのあたりから足も急激に落ちるのが観察された。油の遊離はすり身をすつているときにも起ることがあるが，そのとき水を加えるとふたたび乳化する。これは鮮度の落ちた場合でもどうようである。水を加えると足が落ちるが，しかしこのようにして再乳化したすり身を加熱して作つたかまぼこは油が遊離したかまぼこより強い足が保たれた。

親水性の蛋白のように水和されたコロイドを乳化剤とした乳状液の安定度に関して FISCHER・HOOKER[2] は水和説を提唱している。すなわち安定な乳状液を得るには，かかるコロイドは水のすべてを吸着しているか結合していなければならず，しかも水の量がある限度以上でも以下でもいけないというのである。この仮説

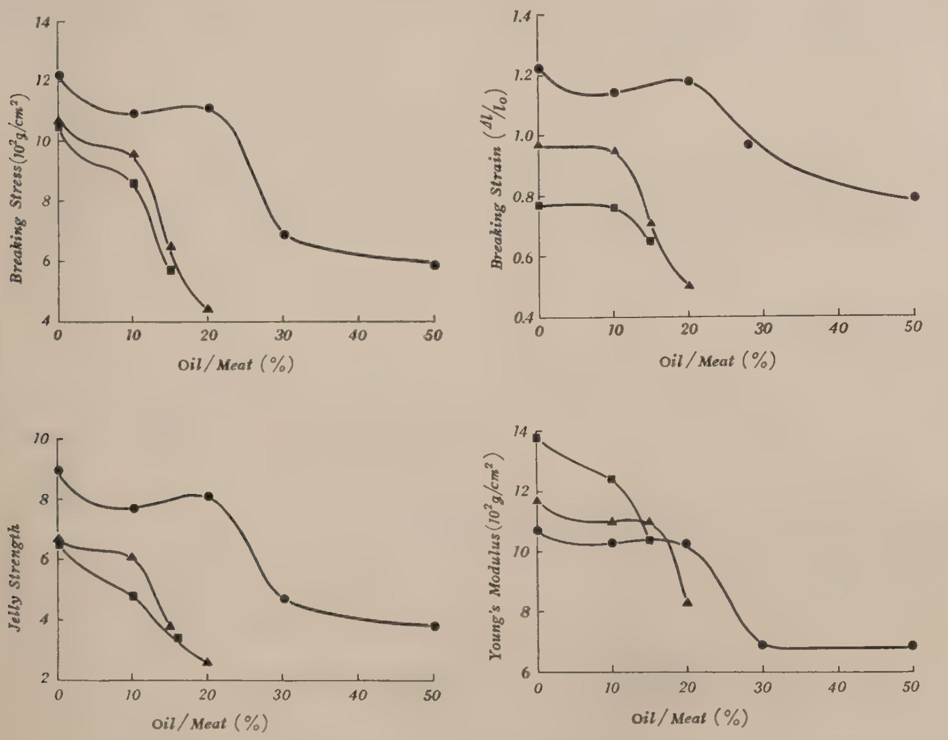


Fig. 1. The effect of added-oil on the elastic properties of Kamaboko made from lizard fish whose freshness was different.
●: 1st day, ▲: 2nd day, ■: 3rd day.

によれば，鮮度の落ちた魚肉のすり身の乳化が不安定になるのは，蛋白の変性による保水力の減少に原因すると解せられるが，不安定になつたすり身に水を加えればふたたび安定した乳状液が得られるという矛盾はどう解釈したらよいか。あるいは水を加えたために未溶解の蛋白がこれに溶解して，乳化剤としての蛋白の量を増し，油の乳化を促がしたのかもしれない。

エソはとくに鮮度が落ちると足の低下が急速になる。製品は脆く，伸びが小さくなる。それがヤング率の増加となつて現われている。しかしそれに油を加えるとヤング率も急速に低下する。

すり身が不安定な場合には 4% の食塩濃度でも油の分離が起つたが，安定なすり身の場合には，魚肉蛋白を塩析する程度に加えなければ安定度に対する食塩の影響はみられなかつた。

要　　約

（1） 鮮度のよいすり身で作つたかまぼこは，ある程度まで油を加えても足が保たれるが鮮度が落ちると油を加えるに従つて足が急激に低下する。

（2） 鮮度のよいすり身では 50% の油を加えても加熱によつて油を遊離するようなことはないが，鮮度が落ちると 15% の油でも保持できなくなる。

文　　献

1) 志水　寛・清水　亘：日水会誌，**19**，596 (1953).
2) B. Lowe: "Experimental Cookery", John Wiley & Sons, Inc. New York, (1932), pp. 232.

食品のイノシン酸含量—I.
定量法の検討

藤田孝夫・橋本芳郎・森　高次郎

(1959 年 3 月 27 日受理)

INOSINIC ACID CONTENT OF FOODSTUFFS—I.
DETERMINATION METHOD

Takao FUJITA, Yoshiro HASHIMOTO and Takajiro MORI*

Inosinic acid, an alleged tasting substance of foodstuff, was determined by the column chromatographic method using an ion-exchange resin, Dowex 1. The method of R. Bergkvist et al. was adopted and found to be satisfactory for the isolation of inosinic acid from adenine or inosine nucleotides (Fig. 1), but not so sharp in separation of the acid from uridylic acid (Fig. 2). As shown in Fig. 3, however, the separation of nucleoside monophosphates is attained by adopting a longer column and a slightly modified eluting agent. It was also found that the time required for the elution of inosinic acid is reducible without any decrease in accuracy by changing the flow rate and composition of eluting agent, as shown in the footnote of Table 1.

The content of inosinic acid determined on the perchloric acid extracts of several kinds of foodstuff is listed in Table 1, together with the results of recovery test on the added inosinic acid. The fish meat reveals higher values, whereas the acid is not detected in the foodstuffs of vegetable origin, dried mushroom and miso (bean paste). Due to the disturbance of unknown substance revealing an intense absorption in ultraviolet region, the determination on sake was impossible.

イノシン酸は古く小玉[1]によりかつお節の主要な呈味成分とされて以来，グルタミン酸，その他のアミノ酸，コハク酸，トリメチルアミンオキシド，ベタイン等と共に食品の旨味物質にあげられてきた。しかし現在までかつお節はじめ食品のイノシン酸含量については信頼し得る定量値は極めて乏しく，イノシン酸が食品の味に占める役割を推察することは殆んど不可能であつた。われわれは食品の味の研究の一環としてイノシン酸をとりあげたが先ずその定量法について検討した。

定量法としては近年ヌクレオチドの定量的分離に盛んに用いられているイオン交換クロマト法によることとし，このうちもつとも適当と考えられる BERGKVIST 等[2]の樹脂にギ酸型 Dowex 1 を用い，脱着液にギ酸及びギ酸ソーダ混合液を用いる方法に従うこととした。先ず各種ヌクレオチド標品を調製し，それを用いて原法の信頼性を確め，次いで食品中のイノシン酸の定量について検討し，更にイノシン酸の定量に適するように多少の修正と簡易化を行つた。その結果の概要をここに報告する。

実験ならびに結果

1. イオン交換クロマト法

ほぼ BERGKVIST 等の報告に従つたが原法に細い記載のない部分及び多少異る点をあげれば次の通りである。イオン交換樹脂は Dowex 1, X 4 の 200 乃至 400 メッシュのものを使用した。樹脂は先ず水洗し夾

* 東京大学農学部 (Lab. Fish. Chem., Fac. Agr., Univ. Tokyo).

雑物や不揃いの粒子を除いて大型のカラムに詰め，2N 塩酸を樹脂の 50 倍容流した後水洗し，更に 2M ギ酸と 2M ギ酸ソーダ混合液を流して Cl 型からギ酸型に変えた。分析に際しては内径 0.9cm，長さ 20cm のガラス管の下端をグラスフィルター No. 4 にて封じ，上部に摺合わせの分液沪斗を附けたカラムを使用した。これに樹脂を 6cm 詰め，約 10 倍容の 2M ギ酸と 2M ギ酸ソーダ混合液を流した後，洗液が pH 5.5 以上になるまで水洗したが，このように処理すれば分析中に樹脂より紫外部吸収物質は溶出しない。一度使用した樹脂は着色した上層部のみを取除き，新しい樹脂を補つて同様に再生，洗滌して使用した。カラムよりの流出液の流下速度を調節するには気密にした分液沪斗上部と大型ガラス瓶Aとをゴム管でつなぎ，更に A に入れた水と他のガラス瓶 B の水をゴム管で連結させ，両者の水位の差によつて調節した。しかし流出に伴う分液沪斗中の液量の減少及び AB の水位の差の変化により流出速度が減少するのでこれを防ぐために適当量の水をガラス瓶 C より B 中に滴下させて B の水位を高めるようにした。分析試料は先づアンモニヤで pH 9.5 に調節して樹脂に吸着させた後，樹脂を 100 ml の水で洗い，次に Fig. 1 に示す脱着液を1分間 0.5 ml の速度で順次流下させ，フラクションコレクターを用いて 10 ml の劃分に分けたが，ギ酸が僅かながら紫外部吸収を示すので各劃分についてそれぞれ脱着液を対照として，ベックマン分光光度計 DU 型を用いて紫外部吸光値を測定した。

2. ヌクレオチドの同定

ヌクレオチドの同定には酸分解により生じた塩基の吸収曲線を pH を変えて測定し，またリボースを Mejbaum 法[3]，全燐，10 分燐を Fiske and Subbarow 法[4] によつて定量した。一般に流出液中のヌクレオチドの濃度はリボース及び燐の定量には低過ぎるので，各流出区分を集め活性炭ノーリット SX 30 を 15 分間懸濁させてこれにヌクレオチドを吸着させた後，目皿沪液斗上に集めて水洗した。次に 0.5% アンモニヤ含有 50% アルコールを滴下して脱着し，ヌクレオチドの濃度を高めてから分析に供した[5]。ノーリットは塩酸酸性で5時間煮沸した後水洗し，ルツボ中で加熱乾燥した上無水アルコール中で煮沸精製した。イオン交換クロマトにおけるヌクレオチドの流出位置は極めて正確なので，一度確めた後はその流出位置と紫外部吸収曲線よりヌクレオチドを同定出来る。この際 240，250，260 及び 270 mμ における吸光値の比より純度が検定出来るが，イノシン酸では E_{240}，E_{260} 及び E_{270} と E_{250} の比はそれぞれ 0.84, 0.60, 0.33 である。イノシン酸劃分は 250 mμ における吸光値を測定し，分子吸光係数 12800 を適用して定量した。なお分子吸光係数は予め五酸化燐上で 100°C にて 3 時間減圧乾燥して恒量とした標品イノシン酸バリウム塩の無水物の塩酸酸性溶液 (pH 3) を用いて測定した上記の値を用いた。

3. ヌクレオチド標品

イノシン酸は Marmur 等の方法[6]，ATP (adenosine triphosphate) は Dounce 等の方法[7] により共にウサギ筋肉よりバリウム塩として調製した。また ITP (inosine triphosphate) は Kleinzeller の方法[8] に従つて ATP を脱アミノしバリウム塩として調製した。これらのヌクレオチド標品は典型的な吸収曲線を示し，燐，リボースを分析した結果はそれぞれ理論値に近い値を示し，イノシン酸では燐 98.7%，リボース 99.1%，ATP では全燐 98.6%，10 分燐 97.6%，リボース 99.1%，ITP では全燐 97.5%，10分燐 98.1%，リボース 97.0% であつた。またアデニル酸は ATP を加水分解して調製し，シチヂル酸，ウリジル酸及びグワニル酸は試薬として入手した。各バリウム塩は H 型 Dowex 50 を用いてバリウムを除き，中和して低温に貯蔵した[9]。

4. イオン交換クロマトによるイノシン酸の分離

a) イノシン・アデノシンヌクレオチドの分離

先づ標品イノシン酸 (140γ/ml，1 ml) を単独で上記の方法により流下させ流出液の紫外部吸光値よりその回収率をみたところ 98.8% であつた。次に原報における各種ヌクレオチドの流出位置を確め，更にイノシンヌクレオチド相互間の分離をみるためにイノシン・アデノシンヌクレオチド混合物のイオン交換クロマトを行つた。このため生きたクルマエビより筋肉を採り氷冷しつつ細断した後 10 倍容の冷塩化カリ溶液中に 15 分間懸濁させて遠心分離することを4回繰返して得た粥状筋肉各 1.5g に ITP (3mg/ml，5ml) 及び

ATP (3 mg/ml, 5 ml) を加え 15 分間 20°C に保つた後，6% 過塩素酸を加えて除蛋白し 25 ml に定容してそれぞれイノシン及びアデノシンヌクレオチド混合液とした[10]。これより各 3 ml をとり混合して上記の方法によりイオン交換クロマトを行つた結果，アデニル酸，イノシン酸，ADP (adenosine diphosphate), IDP (inosine diphosphate)，ATP，ITP の流出位置は原法に全く一致した。この混合液にイノシン酸を添加してイオン交換クロマトを行つた際の流出状況（添加イノシン酸の回収率は 97.5%）を Fig. 1 に示す。またかつお節を削りその 1g を乳鉢中で氷冷しつつ 4% 過塩素酸で 3 回抽出した抽出液 50 ml より 2 ml をとり同様にイオン交換クロマトを行つた結果，先ず脱着液 0.1 M ギ酸でイノシン及びアデニル酸が流出し，次に 0.1 M ギ酸と 0.05 M ギ酸ソーダ混合液でイノシン酸が流出した。以上の結果よりイノシン酸はイノシン，IDP，ITP とは完全に分離して流出することが確められた。

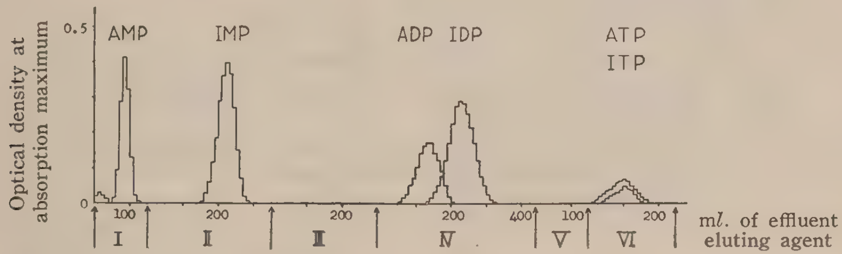


Fig. 1. Ion-exchange chromatography of adenosine and inosine phosphates (method A).

Exchanger: Dowex 1, X4, 200 to 400 mesh, $0.6\,cm^2 \times 6\,cm$, formate form
Flow rate: 0.5 ml./min.
Eluting agents:
- I 0.1 M formic acid
- II 0.1 M formic acid + 0.05 M sodium formate
- III 0.1 M formic acid + 0.1 M sodium formate
- IV 0.1 M formic acid + 0.3 M sodium formate
- V 0.1 M formic acid + 0.4 M sodium formate
- VI 0.1 M formic acid + 0.5 M sodium formate

b) ヌクレオシドモノ燐酸の分離

次にイノシン酸に流出位置の近いヌクレオシドモノ燐酸との分離を調べるため，標品シチヂル酸，アデニル酸，ウリジル酸，イノシン酸及びグワニル酸の適当量を混合してイオン交換クロマトを行つた結果，Fig. 2 に示すごとくシチジル酸，アデニル酸，グワニル酸は相互に分離したが，ウリジル酸は大部分イノシン酸と混合して流出した。イノシン酸は 250 mμ，ウリジル酸は 260 mμ 附近に吸収極大を持つので混合液中のイノシン酸量は 250 mμ と 260 mμ における吸光値より次の式によつて算出出来る。

$$\mathrm{IMP} = \frac{q}{q-p}E_{250} - \frac{1}{q-p}E_{260} = 1.83\,E_{250} - 1.39\,E_{260}$$

ただし p はイノシン酸，q はウリジル酸の E_{260}/E_{250} でその値は 0.60, 1.32 である。しかし両者を完全に分離することが望ましいので樹脂量，脱着液組成を変えて種々検討した結果，樹脂量 $2.3\,cm^2 \times 34\,cm$，脱着液 0.1 M ギ酸と 0.08 M ギ酸ソーダ混合液の場合に両者を完全に分離出来ることが判つた (Fig. 3)。イノシン酸 (119 γ/ml, 3 ml) とウリジル酸 (706 γ/ml, 0.5 ml) の混合液について短いカラム (6 cm) を用いて上式より算出したイノシン酸の回収率は 96.9%，長いカラム (34 cm) で完全に分離した場合のそれは 98.1% であつた。双方の回収率は大差ないが，紫外部吸収曲線よりみて，イノシン酸区分にウリジル酸の混在が推測される場合は長いカラムを用いて両者を分離する方が安全であろう。

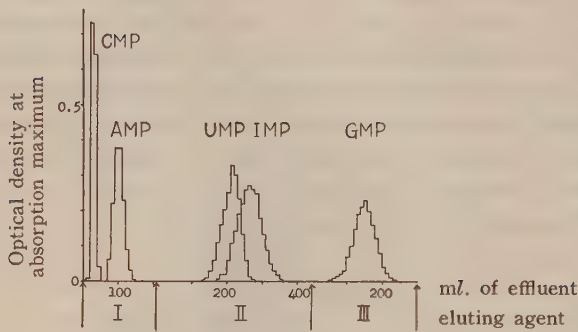


Fig. 2. Ion-exchange chromatography of nucleoside monophosphates.
(See the footnote in Fig. 1.)
Nucleotides: CMP = Cytidylic acid, AMP = Adenylic acid
UMP = Uridylic acid, IMP = Inosinic acid
GMP = Guanylic acid

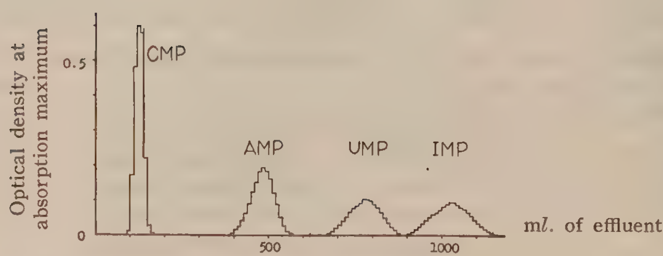


Fig. 3. Separation of nucleoside monophosphates (method B).
Exchanger: Dowex 1, formate form, 2.3 cm^2 × 34 cm
Eluting agent: 0.1 M formic acid + 0.08 M sodium formate.

5. 抽出法の吟味

食品中のイノシン酸を定量する場合，その抽出法が問題となる。アジ生鮮肉を用いて検討した結果では，アジ肉 3g を Elvehjem and Potter 型グラスホモゲナイザー[11] 中で 10% 過塩素酸 10ml とともに氷冷しつつ 15 分間磨砕した後遠心分離し，その残渣を更に 5% 過塩素酸とともに 10 分間磨砕抽出したところ，2回抽出した後の残渣からは更に同様の抽出を行つても紫外部吸収物質は殆んど抽出されなかつた。次にアジ肉 1g（イノシン酸含量 1189γ）に標品イノシン酸（212γ/ml, 2ml）を加え上記のごとく2回磨砕抽出した後残渣を稀過塩素酸で洗い抽出液，洗液を合わせ 5N 苛性カリで中和し生じた沈澱を更に冷水で3回洗つた洗液を加えて試料としイノシン酸を定量した結果，添加イノシン酸の回収率は 94.4% であつた。またアジ肉を同様乳鉢中で磨砕抽出した際のイノシン酸抽出量はグラスホモゲナイザーによる場合と大差なかつた。過塩素酸は過塩素酸カリの沈澱として大部分除くことが出来るが，そのままアンモニヤアルカリ性として分析に供することも可能である。一方三塩化醋酸抽出の場合はこれが紫外部吸収を示し分析中に流出するので完全に除去する必要がある。以上の結果から抽出法は試料を先ず 10%，次いで 5% 過塩素酸3倍容とともにグラスホモゲナイザー中で氷冷しつつ磨砕し抽出することとした。

6. イノシン酸定量の簡易法

以上の実験はすべて原法指定の1分間 0.5 ml の流出速度で行つたが，イノシン酸の流出が完了するまでに約20時間を要し定量に不便なので，精度を落さない範囲で流出速度を速めることを検討した。その結果，試料を樹脂に吸着させた後水 50 ml 次いで 0.1 M ギ酸 150 ml で樹脂を洗い，0.1 M ギ酸と 0.07 M ギ酸ソーダ混合液を1分間 2 ml の速度で流下させる方法をとれば，イノシン酸は約3時間で流出することが判つた。かつお煮熟肉抽出液（イノシン酸 482γ 含有）に標品イノシン酸（212γ/ml，2 ml）を添加し，この方法に従つて定量した結果その回収率は 100.4% であつた。

Table 1. Inosinic acid content of foodstuffs

Specimens	Moisture (%)	Inosinic acid mg.% on dry basis	Recovery of added inosinic acid (%)	Method*
あじ生鮮肉 Fresh meat of jack mackerel	78.8	853	94.4	C
かつお煮熟肉 Boiled meat of bonito	69.1	739	100.4	A
かつお節 Katsuwobushi (Dried bonito)	14.1	737	98.3	A
しらす干 Dried anchovy fry	63.6	439	—	C
貝柱素干品 Dried shell ligament of common scallop	18.4	10	—	B
椎茸 Dried mushroom	10.8	0	98.9	C
酒 Sake	—	?	—	C
味噌 Miso (Bean paste)	50.8	0	98.2	C
ハム Ham	69.8	67	—	C
そばつゆ Stock for soba***	—	26**	96.2	A

* Method A and B are given in the footnote of Fig. 1 and Fig. 3.
Method C: Exchanger 0.6 cm. 2×6 cm., eluting agent 0.1M formic acid + 0.07M sodium formate and flow rate 2 ml./min.
** mg.% on wet basis.
*** The stock for soba was prepared as follows: 6 g. of katsuwobushi and 0.5 g. of tangle were extracted with 100 ml. of boiling water and the extracts were seasoned by soy-sauce, sugar and sweet sake.

7. 食品のイノシン酸含量並びに添加イノシン酸の回収率試験

上記の定量法を用いて数種の市販食品のイノシン酸含量を定量した結果を Table 1 に示す。この結果，カツオ，アジ等魚肉にはかなり多いが椎茸，味噌には全く含まれず，ハムにも少かつた。このうち貝柱はウリジル酸と思われる夾雑物を含有するため，34 cm のカラムを用いてイノシン酸を分離，定量した。またそれぞれの食品抽出液に標品イノシン酸を添加しその回収率を求めた結果を Table 1 に併記したが，回収率は大体満足する値を示しており，通常の食品では上記の抽出法，定量法でイノシン酸の定量が可能と思われる。ただ清酒ではイオン交換クロマト中に大量の紫外部吸収物質が連続して流出し定量が不可能であつたが，このような場合は適当な前処理が必要と思われ，今後の検討を要する。

要約

BERGKVIST 等の蟻酸型 Dowex 1 を用いるイオン交換クロマト法を食品中のイノシン酸の定量に応用したが略々満足すべき結果を得た。抽出には過塩素酸が適当であつた。ただこの方法ではイノシン酸とウリン

ル酸の分離が悪いが，カラムを長くし脱着液組成を多少修正することにより分離出来た。また原法では分析に長時間を要するのでこの点を改良して短時間に行い得るよう簡易化した。

最後に，標品の分与と種々御援助を賜つた味の素株式会社食品研究室に感謝する。

文　　献

1) 小玉新太郎： 東化，**34**, 751 (1912).
2) R. Bergkvist and A. Deutch: *Acta Chem. Scand.*, **8**, 1877 (1954).
3) W. Mejbaum: *Z. physiol. Chem.*, **258**, 117 (1939).
4) C. H. Fiske and Y. Subbarow: *J. Biol. Chem.*, **81**, 629 (1929).
5) R. Bergkvist: *Acta Chem. Scand.*, **10**, 1303 (1956).
6) J. Marmur, F. Schlenk and R. N. Overland: *Arch. Biochem. Biophys.*, **34**, 209 (1951).
7) A. L. Dounce *et al*: *J. Biol. Chem.*, **174**, 361 (1948).
8) A. Kleinzeller: *Biochem. J.*, **36**, 729 (1942).
9) A. Deutch and R. Nilsson: *Acta Chem. Scand.*, **7**, 1288 (1953).
10) K. Lohmann: *Biochem. Z.*, **282**, 109 (1935).
11) V. R. Potter and C. A. Elvehjem: *J. Biol. Chem.*, **114**, 495 (1936).

貝類蛋白のアミノ酸組成について

鴻巣章二・森　高次郎

(1959年3月28日受理)

AMINO ACID COMPOSITION OF SHELL-FISH PROTEINS

Shōji Kōnosu and Takajiro Mori*

Succeeding to the previous papers[1~3], in which the amino acid composition of the proteins of fish and crustaceans was given, the present paper deals with the shell-fish proteins.

The minced edible part of a hard clam (*Meretrix meretrix lusoria* Gmelin) and that of an abalone (*Haliotis gigantea* Gmelin) were thoroughly extracted with boiling water acidulated with acetic acid (pH 4.5), ethanol and ether in order.

Amino acids in the proteins thus obtained were determined by the column chromatographic method using an ion-exchange resin and the results obtained are given in Table 3.

Although the pattern of amino acid distribution in the proteins of these shell-fishes is relatively uniform, some slight differences are observed on several amino acids. The protein of abalone is rich in glycine, proline and arginine and poor in leucine, glutamic acid, tyrosine and lysine when compared with that of hard clam. It is also found that the tryptophan content of the hard clam protein is rather high.

These shell-fish proteins show a lower value of valine, methionine, phenylalanine, lysine and histidine than the muscle proteins of fish[1,2] and crustaceans[3] examined in our previous studies.

先に日常食用となる魚類（13種）[1,2]，甲殻類（3種）[3]及びスルメイカ[2]肉蛋白のアミノ酸組成を微生物定量法或はイオン交換樹脂カラムクロマトグラフ法により分析し，これら水産動物の種類による差及び栄養学的価値などにつき考察を加えてきたが，引続き貝類よりハマグリ及びアワビの2種を選び，同様の研究を行つたのでその結果を報告する。

なお貝類蛋白のアミノ酸組成に関してはすでに二，三報告されているが[4~6]，何れも断片的で全アミノ酸を分析した報告は見当らない。

実　験　方　法

試　料

ハマグリ（*Meretrix meretrix lusoria* Gmelin）　1957年7月下旬浦安で採捕されたものを試料としたが，その殻長は7～8cmで約50個体を用い，肝臓を除く可食部を実験に供した。

アワビ（*Haliotis gigantea* Gmelin）　1957年7月下旬築地魚市場で購入したもので重量250g前後の9個体を用い，内臓を除く可食部を実験に供した。

蛋白の調製

上記試料をそれぞれ磨砕し，一部を一般分析に供し，残部に3倍量の水を加えて良く攪拌した後，酢酸酸性（pH約4.5）とし30分間煮沸後濾過し，残渣を再び同様に処理する。この操作を合計3回繰返した後前報[1]同様酒精及びエーテルで順次処理して供試蛋白とした。

---

* 東京大学農学部 (Lab. Fish. Chem., Fac. Agr., Univ. Tokyo.)

加水分解条件及びアミノ酸定量法[7-10]（イオン交換樹脂カラムクロマトグラフ法）は何れも前報[3]と同様である。

実験結果及び考察

供試試料の一般分析結果及び調製蛋白の全窒素及び粗灰分はそれぞれ第1及び第2表の如くであり，蛋白のアミノ酸組成は第3表の通りである。

Table 1. Composition of the fresh tissues.

Species	Moisture (%)	On moisture-free basis (%)					
		Crude ash	Crude fat	Total-N	Crude** protein	Protein-N*	Protein**
Hard clam§ *Meretrix meretrix lusoria*	83.32	5.01	1.62	8.60	53.75	6.96	43.50
Abalone§§ *Haliotis gigantea*	82.34	5.79	1.24	9.38	58.63	8.47	53.00

* By the STUTZER method. ** N×6.25
§ The edible part, excluding the liver.
§§ The edible part, consisting of the foot and the shell muscle.

Table 2. Crude ash and total nitrogen in the shell-fish proteins*. (On moisture-free basis (%))

Species	Crude ash	Total-N
Hard clam	1.04	14.22
Abalone	0.96	16.09

* The minced fresh tissues (cf. foot-notes in Table 1) were extracted with boiling water acidulated with AcOH (pH 4.5), EtOH and Et_2O in order.

Table 3. Amino acid composition of the shell-fish proteins*. (Grams per 16g. of nitrogen)

Amino acids	Hard clam	Abalone	Crustacean[3]	Fishes[1,2]
Glycine	4.33	6.15	4.6～4.7	3.0～5.5
Alanine	6.23	6.60	5.7～6.0	5.1～7.3
Valine	4.36	4.16	4.4～5.0	5.6～9.3
Leucine	9.59	8.23	8.6～9.0	7.4～9.4
Isoleucine	4.47	4.01	3.8～4.7	5.0～7.9
Serine	4.87	5.20	4.2～4.9	4.6～5.5
Threonine	4.97	4.68	4.1～5.2	5.2～6.0
Methionine	2.67	2.46	2.8～3.2	3.1～3.7
Cystine	1.28	1.29	1.1～1.7	
Aspartic acid	11.24	11.11	11.7～12.3	6.2～11.5
Glutamic acid	17.11	15.79	16.2～17.5	13.4～16.9
Tyrosine	4.56	3.67	4.1～4.7	3.5～4.6
Phenylalanine	3.74	3.73	4.4～4.8	3.4～5.2
Proline	3.41	4.58	3.4～4.5	2.9～4.2
Tryptophan	1.51	0.71	1.0～1.6	1.1～1.4
Arginine	7.81	8.57	6.3～9.0	5.9～6.9
Lysine	8.08	6.80	8.9～9.5	9.9～11.8
Histidine	1.51	1.54	1.9～2.4	2.2～3.9
NH_3	2.27	2.34	1.3～2.1	
N recovered (%)	99.28	99.63		

* See foot-note in Table 2.

両種のアミノ酸組成は魚類相互間及び甲殻類相互間に認められたと同様可成り近似しているが，アワビはグリシン，プロリン，アルギニンにやや富み，ハマグリはロイシン，グルタミン酸，チロシン，トリプトファンに富むなど多少の差が見られ，特にハマグリのトリプトファン含量はアワビの2倍以上の値を示している。

第3表に比較のため先に分析した魚類及び甲殻類肉蛋白のアミノ酸組成を掲げた。これらと貝類蛋白のアミノ酸組成との間には幾つかの相違点が見られる。すなわち前報で著者は甲殻類肉蛋白は魚類のそれに比しバリンおよびリジンに劣ることを述べたが[3]，貝類は甲殻類を更に下廻り，特にアワビのリジン含量は著しく低い。また両種の貝のメチオニン，

フェニルアラニン及びヒスチジンも同様に魚類，甲殻類よりやや少く，逆にアルギニンは魚類より多い。

上述の共通した相違点の外にハマグリのアミノ酸でロイシン (9.59%) がまたアワビでグリシン (6.15%) 及びプロリン (4.58%) の多いことが目立つ。これらは何れもわれわれが今までに分析した魚類，甲殻類を通じて最高の値であつた。またハマグリのトリプトファン含量 (1.51%) はガザミ (1.61%)[3] に次ぐもので魚類に比しやや高い値である。

著者らは先に軟体動物の一つとしてスルメイカ筋肉蛋白のアミノ酸を分析し，その組成が魚類肉蛋白に非常に近似していることを見たが[2]，同じ軟体動物に属するこれら貝類はスルメイカとはやや趣を異にするようである。

文　　献

1) 松浦文雄・鴻巣章二，外: 本誌，**20**，941 (1955).
2) 鴻巣章二，外: 本誌，**21**，1163 (1956).
3) 鴻巣章二，外: 本誌，**24**，300 (1958).
4) 波多腰ヤス: 日農化，**27**，795 (1953).
5) D. M. KULKARNI: J. Univ. of Bombay, **22**, 64 (1953).
6) 田村盈之輔，外: 栄研報，**1956**，28.
7) S. MOORE and W. H. STEIN: J. Biol. Chem., **192**, 663 (1951).
8) E. SCHRAM, S. MOORE and E. J. BIGWOOD: Biochem. J., **57**, 33 (1954).
9) E. W. YEMM and E. C. COCKING: Analyst, **80**, 209 (1955).
10) 須山三千三・鴻巣章二: 本誌，**23**，555 (1958).

種々のクロルテトラサイクリン(CTC)処理方法による底引漁獲物の鮮度保持効果および各処理魚体内の CTC 分布*

米　康夫・富山哲夫・浜田七郎

(1959 年 5 月 4 日受理)

COMPARATIVE EFFECTIVENESS OF VARIOUS CHLORTETRACYCLINE (CTC)-TREATMENTS IN KEEPING QUALITY OF TRAWLED FISH AND CTC RESIDUE ON TREATED FISH

Yasuo Yone, Tetuo Tomiyama** and Shichiro Hamada***

Immediately after being caught butter fish and lizard fish were subjected to various CTC-treatments aboard a bull trawler, "Akashimaru No. 96", and stored in plain or CTC ice in a fish hold of the boat for 16 to 19 days. The CTC treatments employed were (1) CTC-icing (4.5 ppm CTC), (2) two-minute dip in sea water solution of CTC and (3) showering a 25-kg lot of fish with a one liter aliquot of the solution. The volatile bases nitrogen (VBN) and CTC residue were determined after landing by the microdiffusion method[5] and the cylinder plate assay method[4], respectively.

The butter fish stored in plain ice without prior CTC treatment showed incipient spoilage, whereas those held in CTC-ice were judged to keep a passable quality. The quality of the fish stored in CTC-ice was better than that of spray-treated fish and comparable with that of dip-treated in a 10 ppm CTC solution. In dip-treated group, the fish quality was fairly improved with the increase in the CTC concentration.

The CTC residue was found about 0.1 ppm in the flesh of butter fish when sprayed with a 80 ppm CTC solution, dipped in a 40 ppm CTC solution and/or CTC-iced. The CTC residue was highest right under the skin, decreased sharply with the depth of flesh, and not existed in deeper part than a 5-mm distance from the skin.

In case of lizard fish, the effectiveness of the CTC treatment was not so marked. The CTC residue in this fish was far smaller than that in butter fish though the vertical distribution pattern of CTC in the flesh was similar each other.

Under the present experimental condition, the CTC residue varied linearly with the CTC concentration of the solution for the dip or spray treatment, and logarithm of the residue in the flesh showed a linear relationship with logarithm of VBN of the flesh. These relationships suggest that passable quality (VBN, 25 mg %) of any fish comparable to butter fish in size and shape will be resulted from keeping CTC residue at a 0.1 ppm level which can be achieved by such treatment aboard the boat as a dip in 20 to 40 ppm CTC solution or a spray with solution of CTC concentration higher than 80 ppm.

富山等[1]は 1956 年に底引漁獲物を船上でクロルテトラサイクリン（CTC と略記）液に浸漬するか，CTC 氷によつて氷蔵するか或は浸漬後 CTC 氷で保蔵すると，良い鮮度が保持できることを報告した。篠山等[2]もキグチ，ニベおよびタチウオを船上で CTC 浸漬処理すると，ニトロフラゾンに浸漬処理した場合よりも優れた鮮度保持がえられたと報告している。しかし同一魚種について CTC の種々の濃度の液を用い，種々

---

* 本研究の概要は 1959 年 4 月 3 日の日本水産学会年会（東京都）において発表した。
** 九州大学水産化学教室 (Fish. Chem. Lab., Kyushu Univ., Fukuoka, Japan.)
*** 西海区水産研究所 (Seikai Reg. Fish. Res. Lab., Nagasaki, Japan.)

の CTC 処理方法を適用した場合の保鮮効果の比較および保鮮効果と CTC 滲透量との関係について研究した報告はない。

CTC 氷および CTC 液で魚体を外部から処理する場合には各種の方法が考えられる。CTC 氷の場合にはこれを直接に魚体の上に載せる方法および魚体との間にパーチメント紙を置く方法がある。魚体を CTC 液で処理する場合にも船上の処理能率を考慮に入れると，短時間浸漬処理法および散布法が考えられる。

これらの方法で魚体表面に附着する液が一定量であれば，用いる液の濃度によつて保鮮効果は著るしく影響される筈である。他方，液の濃度を高めると，処理後に CTC の肉への滲透量が増大する筈であるから，その滲透量について検討する必要がある。

本研究は以上の点を解明するために行つたものであつて，著者の一人（浜田）が手繰船に乗船し，実際の漁獲操業条件で種々の CTC 処理方法を実施し，氷蔵条件も一般の手繰船のものと同一にして帰港し，陸揚げ後に肉の鮮度および CTC 含量を求めた。その結果では従来報告されていない二，三の事実を明かにしたので以下に報告する。

研究材料および方法

1. 研究材料： 1958 年 11 月 19 日より 11 月 21 日までの間に第 96 および第 97 明石丸（大洋漁業 KK 所属）が東支那海の農林漁区 543，532 および 522 において，底引網で漁獲したイボダイ（*Psenopsis anomala*；体長 11～16 cm，体重 90～110 g）およびワニエソ（*Saurida tumbil*；体長 40～50 cm，体重 800～1500g）を供試した。

漁獲物の処理に使用した CTC は医薬用 CTC 塩酸塩結晶である。CTC 氷は日本レダリーの指示方法[3]により製造した 4.5 ppm CTC 含有氷であり，浸漬および散布処理にはアクロナイズ FD (CTC 10% ＋ クエン酸 10% ＋ 食塩 80%）の海水溶液を使用した。

2. CTC 処理方法： 漁獲直後水洗し，第 96 明石丸船上で，10，20，40 および 80 ppm の CTC-海水液の 30 l に，籠にいれた約 50 kg（2 箱分）の供試魚を 2 分間浸漬し，次に常法のように箱建した浸漬区をつくつた。また水洗し箱建後，前記の CTC 濃度をもつた海水液を 1 箱に対し 1 l の割合でジョロで散布した散布区を設けた。なお 1 網の漁獲物中に同一魚種の尾数が少かつたので，イボダイでは全試験区を充すのに 11 月 19 日，20 日および 21 日の漁獲物を用い，1 区当り 1 箱づつを作つた。従つて試験区に用いたと同じ条件の漁獲物で必ず無処理の対照区を毎回作るように注意した。

各試験区の魚箱はパーチメント紙或はポリエチレン膜で覆い，魚艙内で 5 ppm の CTC を含む氷或は白氷中に貯蔵した。魚の被覆用にパーチメント紙とポリエチレン膜を用いたのは，前者では氷の融解水が多少通過し，後者では全く通過しないので，外観および保鮮効果に多少の差があるかと考えたからである。試験区の各魚箱を魚艙に収納する場合には，先づ魚艙内を魚箱やシートで縦に 2 分し，左舷側に白氷を，右舷側に CTC 氷を詰めるよう注意し，また試験試料は魚艙内の両舷側，上層および下層を避けて中央部附近に貯蔵した。

漁獲物は 12 月 6 日に陸揚げし，氷およびパーチメント或はポリエチレン膜を取去り，新らしいポリエチレン膜と白氷とを順次に載せ，$-2\sim0$°C の室に貯蔵し，12 月 7 日より 10 日迄の間に CTC の残存量並びに揮発性塩基の定量を行つた。従つて供試魚は漁獲よりこれらの定量迄 18～19 日の間それぞれ氷蔵されたことになる。

3. CTC および揮発性塩基窒素（VBN）の定量： 各試験区の魚箱の上部から任意に 1 区当り 20 尾のイボダイを，また 1 区当り 4 尾のワニエソを抽出して試料とした。また魚箱の上下により CTC の浸透量に差があるか否かを知るために，CTC 液を散布しポリエチレンで被覆し白氷で貯蔵した試験区の魚箱の下部からも任意に同数の魚を抽出供試した。

これらの供試魚は軽く水洗し，内臓を除去し，三枚におろした後に腹部を除き，次に皮と肉とに分けて，皮は包丁で，肉はミックサーで細砕し，それぞれ定量に供した。CTC の定量には富山・小林・米の簡易 cylinder plate 法[4]を用いた。CTC の滲透模様を知るためには，7 尾のイボダイおよび 4 尾のワニエソの連結組織をそれぞれカンナで薄層に切り，各切片について定量した。この場合には試料がイボダイでは 5.2～7.3g，エソでは 6.6～9.7g であつたので，ミクロブレンダーを用いて混和抽出した。VBN の定量は Conway の微量拡散法[5]により行つた。即ち 10g の肉糜に 30cc の 5% 三塩化酢酸を混和して除蛋白し，

その沪液を定量に供した。

研 究 結 果

1. CTC 処理イボダイおよびワニエソの鮮度

研究方法の部に記載した方法で漁獲直後のイボダイおよびワニエソを船上で処理し，魚艙中に白氷或は CTC 氷で氷蔵して帰港したものの鮮度を官能検査および VBN によつて判断した結果は，Table 1 および 2 に示す通りである。これらの表から明かなことは，イボダイにおいては白氷で保蔵した対照区はいづれも腐敗していたが，処理区は 10 ppm および 20 ppm CTC 散布-白氷貯蔵区を除いては効果が認められた。特に浸漬区は CTC の 20 ppm 以上に浸漬したものが良好であり，散布区は 80 ppm を用いたものが比較的によかつた。注目すべきことは，20 ppm CTC 以上の濃度に浸漬した場合には CTC 氷との組合せは無効であつたが，10 および 20 ppm CTC 液を散布した

Table 1. Organoleptic phases[1] of round fish in various experimental groups

Fish species / Date of catch			Butter fish* XI/19	XI/21	XI/21	XI/20	Lizard fish** XI/18	XI/18
Treatments		CTC conc. (ppm) for dip or spray	10	20	40	80	20	40
Control	plain ice	parchment	IV	III	III–IV	IV	IIa	
		polyethylene	IV	III–IV	III	III–IV	IIa	
	CTC ice	none	III–IV	IIb	IIb	IIb		
Dip	plain ice	parchment	IIb–III	IIb	IIa	IIa–IIb	IIa	Ib–IIa
	CTC ice	none	IIb	IIb	Ib–IIa	IIb–III	Ib–IIa	Ib–IIa
Spray	plain ice	parchment	III	IIb–III	IIa–IIb	IIa–IIb	IIa	Ib–IIa
		polyethylene	III–IV	III–IV	IIb–III	IIb–III	Ib–IIa	Ib–IIa
	CTC ice	parchment	III	III	III	IIb	IIa	IIa
		none	III–IV	IIb	IIb	IIb	IIa	IIa

* *Psenopsis anomala* ("ibodai"). ** *Saurida tumbil* ("wanieso").

1: The organoleptic phases herein presented are principally those for haddock according to Reay-Shewan[6]. Ib: Eyes not sunken, lost brilliancy. Gills red, stale odor. Surface brilliant. Flesh noticeably soft. Odor neutral. IIa: Eyes slightly sunken, opalescent. Gills red, putrid odor. Surface slightly slimy. Flesh softer. Odor "strengthening" but not stale. IIb: General appearance stale. Eyes sunken. Gills red, putrid odor. Surface slimy. Flesh soft. Odor stale. III: Eyes opalescent, sunken. Gills pale red, putrid odor. Surface very slimy. Flesh very soft. Odor bad odor. IV: Eyes deeply sunken, sometimes hemorrhagic. Gills grey, putrid odor. Surface very soft, very slimy. Flesh very soft. Odor putrid.

Table 2. Volatile bases nitrogen content (mg%) of muscle of fish in various experimental groups

Fish species / Date of catch			Butter fish* XI/19	XI/21	XI/21	XI/20	Lizard fish** XI/18	XI/18
Treatments		CTC conc. (ppm) for dip or spray	10	20	40	80	20	40
Control	plain ice	parchment	44.8	40.1	37.1	45.5	38.1	
		polyethylene	38.0	59.5	37.7	37.4	36.1	
	CTC ice	none	32.1	28.7	31.3	36.8		
Dip	plain ice	parchment	36.0	31.1	20.1	21.7	31.0	32.7
	CTC ice	none	28.1	26.1	19.7	24.9	26.7	27.4
Spray	plain ice	parchment	42.2	34.0	27.7	28.0	30.1	30.1
		polyethylene	49.4	41.2	30.1	30.8	26.3	29.4
	CTC ice	parchment	30.8	32.9	30.4	25.4	30.0	27.6
		none	33.6	23.7	30.7	30.8	25.5	34.1

*) **) See Table 1.

場合にはこの組合せは有効であつた。これに対しワニエソでは対照区も比較的によい鮮度を示し，CTC 浸漬および CTC 散布の効果は僅かであつた。なお白氷氷蔵の場合，パーチメント紙被覆とポリエチレン膜被膜との間には鮮度の差は認められなかつた。

2. イボダイおよびワニエソの肉および皮における CTC 残存量

肉における CTC 残存量は Table 3 に，鱗を含む皮における CTC 残存量は Table 4 に示してある。イボダイの肉の場合には CTC 氷氷蔵のみでは残存量 0.04 ppm であり，散布では CTC 濃度が 40 ppm においても残存量は平均 0.03 ppm に過ぎなかつた。これに対し浸漬区においては 10 ppm の CTC 浸漬では残存量が 0.04 ppm であつたが，浸漬液の CTC 濃度の増加と共に残存量が増加した。皮においては多少異り，CTC 氷氷蔵のみでは平均 0.30 ppm，10 ppm CTC 浸漬のみでは 0.17 ppm，散布では CTC 濃度が 40 ppm であつても 0.11 ppm であつた。散布の場合に魚箱の上部と下部とで肉への CTC の滲透量にどの程度の差があるかをみた結果は Table 5 に示すように，僅かの差異しか認められなかつた。また上下の鮮度差も高濃度の CTC の場合に僅かに認められる程

Table 3. CTC residue in flesh of bottom fish

Fish species			Butter fish "ibodai"				Lizard fish "wanieso"	
Date of catch			XI/19	XI/21	XI/21	XI/20	XI/18	XI/18
Treatments		CTC conc. (ppm) for dip or spray	10	20	40	80	20	40
Control	plain ice	parchment	neg.*	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
		polyethylene	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
	CTC ice	——	0.04	0.04	0.03	0.04	neg.	neg.
Dip	plain ice	parchment	0.04	0.10	0.15	0.36	0.01	0.03
	CTC ice	——	0.04	0.08	0.16	0.39	neg.	0.04
Spray	plain ice	parchment	0.01	0.03	0.02	0.11	neg.	neg.
		polyethylene	neg.	neg.	0.04	0.06	neg.	neg.
	CTC ice	parchment	0.03	0.02	0.03	0.07	neg.	neg.
		——	0.07	0.07	0.04	0.04	neg.	neg.

* neg. means smaller than 0.01 mcg per g. tissue.

Table 4. CTC residue on skin of bottom fish

Fish species			Butter fish "ibodai"				Lizard fish "wanieso"	
Date of catch			XI/19	XI/21	XI/21	XI/20	XI/18	XI/18
Treatments		CTC conc. (ppm) for dip or spray	10	20	40	80	20	40
Control	plain ice	parchment	0.06	0.02	0.01	0.01	neg.	neg.
		polyethylene	neg*.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
	CTC ice	——	0.30	0.21	—	0.39	—	—
Dip	plain ice	parchment	0.17	0.39	0.58	1.21	0.10	0.14
	CTC ice	——	0.23	0.36	0.66	1.24	0.10	0.22
Spray	plain ice	parchment	0.06	0.11	0.10	0.19	0.05	0.11
		polyethylene	0.04	0.04	0.11	0.15	0.02	0.07
	CTC ice	parchment	0.17	0.12	0.18	0.39	neg.	—
		——	0.40	0.53	0.22	0.19	0.07	0.12

* neg. means smaller than 0.01 mcg per g. tissue.

Table 5. Change in CTC content of fish* with position of fish container

Spec. of fish	mcg per cc. of CTC-sea water used for spraying	position of fish box	CTC content, mcg/g flesh	CTC content, mcg/g skin	VBN mg%	Organoleptic phase
Butter fish	10	upper	neg.	0.03	32.7	Ⅲ
		bottom	neg.	0.05	35.4	Ⅲ
	80	upper	0.06	0.19	26.4	Ⅱa
		bottom	0.06	0.15	27.4	Ⅱb
Lizard fish	20	upper	neg.	0.04	29.4	Ⅱa
		bottom	neg.	neg.	30.1	Ⅱa
	40	upper	neg.	0.10	23.7	Ⅰb–Ⅱa
		bottom	neg.	0.09	25.4	Ⅱb

* Fish were covered with polyethylene film after being sprayed, and then stored under plain ice.

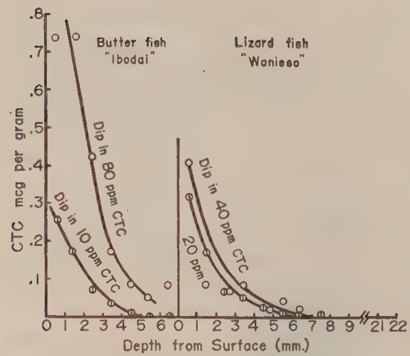


Fig. 1. Distribution of CTC in muscle of dipped fish.

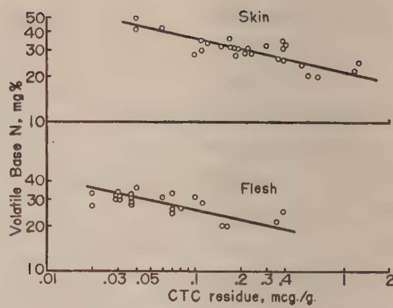


Fig. 3. Relationship between CTC residue in skin and flesh and volatile bases nitrogen content of muscle of dipped butter fish.

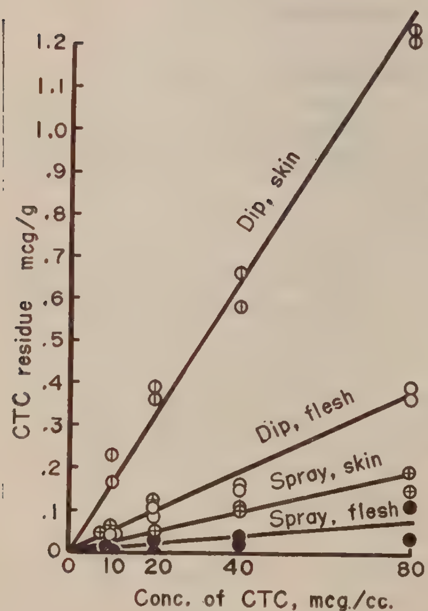


Fig. 2. Relationship between CTC residue in skin and flesh of butter fish and CTC concentration employed for dip or spray.

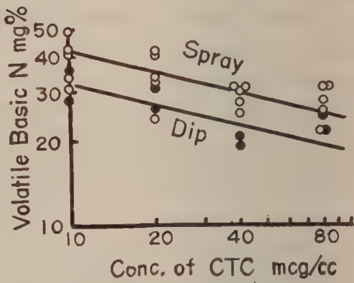


Fig. 4. Relationship between CTC concentration of CTC-sea water employed and volatile bases nitrogen content of muscle of dipped butter fish.

度であつた。他方，ワニエソの肉の場合には浸漬区に 0.01～0.04 ppm が認められただけで，他の試験区のものは，いづれも検定限界の 0.01 ppm 以下であつた。

これらの肉中の残存量が肉の部位にどのように分布するかをみた結果は Fig. 1 に示すように，10 ppm に浸漬したイボダイは皮下 5 mm より深部へは全く浸透していなかつたが，80 ppm に浸漬したものは浸透量も多く範囲も深かつた。これに反しワニエソの 20 ppm 浸漬区は 40 ppm 浸漬区と浸透範囲に殆んど差なく，イボダイの 10 ppm 浸漬区と近似した浸透図を示し，皮下 6 mm 以深へは浸透が認められなかつた。

3. 処理液の CTC 濃度と組織中の CTC 残存量との関係，並に CTC 残存量と肉の VBN との関係

浸漬液および散布液の CTC 濃度とイボダイの肉および皮における CTC 残存量との関係は，Fig. 2 に示すように明かに直線関係が認められる。また肉および皮における CTC 残存量と肉の VBN との関係は，Fig. 3 にみられるように，双方の対数値の間に略々直線関係が成立し，従つて処理液の CTC 濃度の対数値と肉の VBN の対数値との間にも直線関係が成立する (Fig. 4)。

考　　察

底引漁獲物を船上で CTC 液に浸漬処理或は CTC 氷で氷蔵することが鮮度に有効なこと，また CTC 処理漁獲物の肉中の CTC 残存量は 0.1 ppm 程度であることについては富山等の報告[1,7]がある。しかし昭和32年の厚生省告示で許可された CTC 氷による処理以外に，浸漬および散布処理が許可されるためには，有効で実用的な処理方法を探求するだけでなく，種々の処理方法を施した場合における魚肉中の CTC 残存量に関する資料を必要とする。

本研究ではイボダイを用い，浸漬法，散布法，氷蔵法およびそれらの組合せの保鮮効果を比較した。その結果は浸漬法が最も優れているが，10 ppm の CTC 液浸漬では CTC 氷氷蔵法と近似の効果に過ぎず，少くとも 20〜40 ppm の CTC 液を使用すべきことが分つた。これに対し散布法は効果が劣り，40 ppm 以下の CTC 液では効果が少く，ただ CTC 氷と併用した時のみ有効であつたことは注目すべきである。このように散布法が浸漬法に劣ることは，魚体の背部を上にして CTC 液を散布する方法では，腐敗菌の侵入場所として重要な鰓が CTC 液に触れ難いためであろう。

CTC が比較的浸透し易いと思われるイボダイの肉中の CTC 残存量をみると，CTC 氷氷蔵，80 ppm の CTC 液散布および 40 ppm CTC 液浸漬処理では，いづれも 0.03〜0.15 ppm 程度であつた。この量は米国およびカナダで既に2年以上市販されている CTC 処理鶏肉の料理後における CTC の残存量程度であるから，この程度のものは生食されても差支えない。従つて船上での CTC 処理には氷蔵のみでなく，浸漬法および散布法も実用されてよいといえる。

皮中の CTC 残存量は肉のそれの 3〜6 倍であつた。皮から肉への CTC 浸透残存の模様をみると，両魚種とも皮から 5 mm 迄の間で内部に向つて急傾斜に減少している。イボダイとワニエソとを比較すると，40 ppm および 20 ppm の CTC 液に浸漬したワニエソの CTC 滲透図と 10 ppm に浸漬したイボダイの CTC 滲透図が近似しているので，エソではイボダイに比べて CTC が皮を通過し難いものと推察される。

イボダイの場合には処理方法の如何を問わず CTC 残存量の対数値と肉の VBN の対数値との間に直線関係が認められたので，Fig. 3 から求めると，肉の VBN が 25 mg% でよい鮮度が保たれるためには，CTC 残存量は少くとも 0.1 ppm を含まねばならない。他方 Fig. 2 から明かなように，0.1 ppm の CTC が肉中に残存するためには，2分間浸漬処理のの場合には 20 ppm の CTC 液，散布の場合には 80 ppm 以上の濃度の液を用いねばならない。勿論これらの値は魚体の大小，表皮の厚薄，鱗の大きさや被覆等の条件で変化するであろうが，魚体が小さく，小鱗で覆われた魚種についての一つの代表的資料といえよう。

これに対してワニエソのように鱗も大きく，魚体或は肉層の厚い魚種では明かにこの関係が成立しない。Fig. 1 にみられるように，この場合にも CTC は皮から 6 mm までの筋肉内へ滲透しているにも関らず，全魚肉の CTC 含量は 0.01 ppm 程度の微量であつた。これは明かに 6 mm までの CTC を含む肉層が CTC を含まない約 16 mm の肉層で稀釈されていることに原因していることは，Fig. 1 の滲透図から全肉中の CTC 量を計算すると 0.016 ppm となることから裏づけされる。また比較的大形のワニエソでは CTC の侵入が表皮に近い部分のみであるから，長期間保蔵の場合に内臓からの変敗を防止しえない。従つて CTC 処理の効果が判然としない一つの原因と思われる。大形或は筋肉の厚い魚では内臓を除去してから CTC 処理すべきである。

本研究でえられた保鮮効果および CTC 残存量の結果から綜合的に考えると，イボダイと類似の魚種の場合，船上での実用的処理方法としては，40 ppm の CTC 液に短時間浸漬するか，或は腹部を上にして箱建てしてから，80〜100 ppm の CTC 液を1箱に対し 1 l 以上をジョロで散布した後，パーチメント紙で覆い，もし保蔵期間が 15 日以上に亘るものは CTC 氷で保蔵するのが最もよいといえる。

総　　括

大洋漁業所属第 96 明石丸船上において CTC 処理の各種方法を適用した場合の保鮮効果の比較および陸

揚げ後における処理魚の CTC 残存量について研究し，次のような結果をえた。

1 .CTC 氷 (4.5 ppm) で魚艙に 16～19 日氷蔵した後の鮮度は白氷区よりも優れていた。白氷区は陸揚げ当時既に殆んど初期腐敗の段階にあつた。

2. CTC 10 ppm の液に浸漬した場合および 10 或は 20 ppm の液を撒布した場合には，CTC 氷の併用によつて保鮮効果が高まつた。

3. 浸漬および撒布の場合には液の CTC 濃度の増加と共に保鮮効果は良好となつた。

4. イボダイの肉における CTC 残存量は濃度 80 ppm の液に浸漬した場合を除くと，いずれの処理方法によつても 0.1 ppm 附近或はそれ以下であつて，生食しても差支えない量であつた。

5. ワニエソの場合には 40 ppm の濃度の CTC 液に浸漬した場合でさえ 0.03 ppm に過ぎず，氷蔵法および撒布法で処理した場合は検知できない量（<0.01 ppm）であつた。

6. CTC の筋肉への滲透はイボダイおよびワニエソいずれの場合にも皮下 6 mm 迄の肉層であり，濃度は内部に向つて急傾斜に減少していた。

7. 肉或は皮の CTC 残存量の対数値と肉の VBN の対数値とは直線関係を示す。この関係からみると，よい鮮度を保つためには肉に少くとも 0.1 ppm の CTC が含まれねばならない。イボダイの場合，肉に 0.1 ppm を含ませるためには，浸漬液の濃度は 20～40 ppm，撒布液の濃度は少くとも 80 ppm とせねばならない。

本研究は日本レダリー KK の支援の下に実施され，また大洋漁業 KK 長崎支社高峰漁業課長および第 96 明石丸乗組員各位の協力をえた。研究の遂行には西海区水研の山田紀作博士，篠山茂行技官，長崎水試藤田場長の理解ある援助と当教室の小林邦男，森　健児，豊田恭平，岩崎富生氏等の助力を仰いだ。ここにそれぞれ深謝の意を表する。

文　　献

1) 富山哲夫・米　康夫・黒木俊一・野村　稔・原　昭太郎・七字　徹・前田敏弘・小田一郎・松尾俊朗: 本誌，**22**, 128 (1956).

2) 篠山茂行・浜田七郎・江平重男・山田紀作: 西海区水産研究所研究報告，12 号，21 頁 (1957).

3) 日本レダリー KK: アクロナイズ・ニュース No. 2 (1957).

4) 富山哲夫・小林邦男・米　康夫: 本誌，**24**, 937 (1959).

5) Conway, E. J.: "Micro-diffusion analysis and volumetric error", Crosby Lockwood and Son, Ltd., London (1939), pp. 75～81.

6) Reay, G. A., and Shewan, J. M.: "The spoilage of fish and its preservation by chilling". Advances in Food Research, Vol. 2, p. 343 (1949), Academic Press Inc., New York, N. Y.

7) 富山哲夫・米　康夫・津田　厚: 本誌，**23**, 568, 572 (1958).

抄　　録

クロマス類の行動について　R. A. PARKER, A. D. HASLER: *Capeia*, (1), 11～18 (1959).　クロマス類には帰家性があることが知られているが本研究ではこれらについて実験的に種々の検討を試みている。即ち1955～1957年にわたり北部 Wisconsin の3つの湖において各々8地点をつけ，そこで採集した総尾数4,565個体に標識を行い，各湖の中心部から放魚して各採集地点における再捕状態を調べて，これら魚種の帰家性の比率や機構等を考察している。放魚地点から各最初の採集地点に帰つた魚の再捕率は年間 27.7～46.1%でかなり高い再捕率を示している。再捕魚の内容を見ると季節的な影響も，個体の大きさや年齢による差異等も認められないようである。また再捕率と放魚後再捕されるまでの時間との関係については，放魚後2週間以上経過して再捕されたものの割合がそれ以前に捕獲されたものより多くなつており，最初に採集した地点と放魚地点の距離的関係から考えるとこれらの魚の帰家行動は直線的でなくかなりの迂回行動をとることが認められる。本研究の資料を用いて Petersen 法による資源量の推定を行つているが，採集条件や魚の行動を考慮して原式を変形して推定を行つている。(服部)

養殖マスの生存競争による死亡　R. B. MILLER: *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **15**(1), 27～45 (1958).

著者は放流後間もなく起る養殖マス(Cutthroat trout)の死亡 "delayed mortality" が人工飼育あるいは輸送等によつて起るものでなく，多くは先住者との生存競争によつて生ずると述べている。すなわち，先住者のいる所では放流後2週間以内に高率の死亡が起り，先住者のいない所では生残率がよい。Gorge creek (Albert Biological Station test stream) で実験的に無競争水域および競争水域を設けて両水域にマス (無競争水域には 42～163g，競争水域には 14～85g) を放流し，それらの血液乳酸量の変動を調べた結果，2週間以内に，無競争水域ではその値が正常および野生のマスの 2～4 倍(16.9～36.0 mg/dl)，競争水域では 3～5 倍 (27.1～42.9mg/dl) に達し，両水域のマスとも 9～10 日に最も高く，以後下降する事が認められた。放流魚はその初期に餌，住み家の発見，および先住者との競争があり，ここで自己の生存を保持するために筋肉努力によつてある種の代謝産物を消費し，この時弱い魚は死亡する。なお，血液乳酸量については無競争水域のマスは，12～13 日に野生魚とほぼ同じ値(9.9mg/dl)を示したが，競争水域のマスは 17～18 日以後も前者等のものより高い値であつた。血液乳酸量の高い時期と放流魚の死亡する時期とは一致し，2週間以内に，放流後の全死魚数の 84% ('50), 89% ('52), 85% (,54), および 54% ('55) が死亡した。その死因はまだ不明であるが，体内蓄積物を消費し，acidosis および饑餓で死ぬらしい。(佐野)

サケの生長における血液の形態的組成　I. N. OSTROUMOVA: *Trud. Soveschan. Fiziolog. Ryb*, **1958**, 381～385.　著者はバルト海産のサケのふ化後第1日から生長に伴う稚魚の赤血球の量的および形態的変動について報告している。ふ化後1日の稚魚からの採血は卵嚢を切らぬように頭部を切断し，その断端から毛細管を用いて行われた。管内の血液を吹き出してスライド上にとるが，この時入つて来る蒸気で溶血を起さぬよう注意する。Pappenhein の方法で染色した塗沫標本の観察結果は，ふ化後1日 (20 mm, 0.12 g) の赤血球組成は第1次赤血球が 100%を占めている。この血球はふ化前に形成され，円形 (500 μ^2) で比較的大きな丸い核をもち，核構造は密で細胞質は黄桃色に，核はすみれ色に染まる。10～13 日 (22～23 mm, 0.13～0.14 g) では 3～15%の未熟細胞 (だ円か円形の血球で濃青色に染まる，円形の大きな核を有する) が出現する。やがてこれらの未熟細胞は核を凝集し成熟しながら第2次赤血球 (成熟赤血球とほとんど区別がない) に変化する。50 日 (30～32 mm, 0.4 g) では卵嚢は完全に吸収され，第1次細胞は減少し，次第に第2次細胞が増加する。この頃の赤血球数は 60 万/mm³ (Goriaeb kamepa) で Hemoglobin 含有量は 26～28%，未熟細胞は 6～10%である。80～90 日 (48 mm, 1.25 g 以上) では 7～10 % の未熟細胞が見られ，大多数は第2次細胞となる。130～140 日 (65 mm, 2.00 g) では赤血球数は 90 万/mm³, Hemoglobin 含有量は 35%に達し，未熟細胞は 7～8%認められる。この頃の稚魚が河川に放流され，11 月採捕された当才稚魚 (113 mm, 11.6 g) では親の赤血球と区別がなく，赤血球数 100 万/mm³, Hemoglobin 含有量は 44%，未熟細胞は 4～5%であつた。この様に卵嚢吸収と平行して第1次赤血球は減少し，その終期に未熟赤血球が出現する。摂餌する頃になると第2次赤血球，未熟赤血球および第2次赤血球が出現し，その後生長とともに第2次赤血球が大多数を占め，少数の未熟赤血球がこれに伴う。(佐野)

最新世界漁具集覧　H. KRISTJONSON and his associates: (1959).　この本は，1957 年9月ドイツのハンブルクで開催された国際漁具会議に各国の漁業専門家や種々の漁具および漁撈装置の製作者より提出された 100 余の論文と，会議に出席するために各国から派遣された約 500 人の専門家によつて行われた討議とを礎として，FAO 水産部門主任の H. KRISTJONSON 氏が中心となつて編集したものである。内容は，これらの論文を中心とし，必要なところは更に補足詳述して 13 の項目に分類し，漁網綱

用としての天然繊維,人造繊維の特質,特殊漁具およびあらゆる型の漁具の操作法,光による集魚法,電気装置による探魚法等，最後に電気漁法技術および海上に於ける工船操業について討議がなされている。またこの本によつて漁業技術の機械化，即ちスチームからディーゼルへ，曳網および揚網の動力化，大戦中に発達した音響測深機による魚群発見能率の向上および化学者による人造繊維の創造等が過去30年間の漁業の進歩に如何に功献したかも述べられている。編集に当つては，漁業者，漁業技術者，種々の漁具および魚群探知機等の電気技術者等の人々に理解し易く整理し，本文は英文で書かれているが各論文についてはそれぞれフランス語とスペイン語の抄録もつけてある。頁数は約680頁で800枚余の一般図及び図表が含まれ，価格は5ポンド5シリング，(原著名 Modern Fishing Gear of the World) 出版元は Fishing News, Ltd., Ludgate House, 110, Fleet Street, London, E.C. 4,（鈴木）

包装冷凍肉の肉色に及ぼす貯蔵条件　W. E. Townsend and L. J. Bratzler: *Food Technology*, **12**, 633〜666 (1958). 包装した冷凍牛肉では肉の褪色が重要な問題である。この報告では非通気性の包装材で包装したステーキについての貯蔵温度，光線の影響が検討されている。0°F（一定温度）の冷蔵庫で螢光灯のもとで貯蔵したステーキは温度変化のある（−4.0°F〜＋5.0°F）小売用ケースで貯蔵したステーキよりも変色が少く，メトミオグロビン生成も少い。また凍結と融解をくりかえすと肉色は著しく変化する。種々の色の螢光灯のもとで貯蔵した結果から，560 mμ と 630 mμ の間の波長（黄色とオレンジ色のスペクトル）が包装冷凍ステーキの褪色に影響し，緑色，赤色の螢光灯のもとで貯蔵したものは肉色が比較的安定であることが判つた。これらの結果から，小売用ケースの白色螢光灯の黄色部分の波長がミオグロビンに吸収され，光化学的反応によつてオキシミオグロビンまたはミオグロビンをメトミオグロビンに変化させ，肉の褪色の原因となるものと考える。（尾藤）

タラとニシンの骨骼筋中のグルコースとリボースの定量　N. R. Jones: *Biochem. J.*, **68** (4), 704〜780 (1958). 筋肉の抽出液は三塩素酢酸抽出後エーテルにて酸を除いたもの，及びエタノール抽出後更にクロロフォルム処理を行つたものを使用した。この抽出液にはアミノ酸が含まれ，ペーパークロマトグラフによる定量操作中に糖アミノ反応が進行し，リボースが減少することが判つたので，Amberlite IR-120 (H^+) と Amberlite IR-4B (OH^-) を等量混合したものに抽出液を加えて15分間振盪することによつてアミノ化合物その他の夾雑物の除去処理を行つた。処理液を濃縮後一定容をワットマン No. 1 沪紙に滴下し，ブタノール，酢酸混液で展開を行う。展開後アニリンハイドロゲンフタレート（ブタノール液）で糖を発色させ，呈色部を酢酸で抽出し，480 mμ の吸光値を測定する。この方法によるとグルコースとリボースを6％の誤差内で定量することができる。ATP, ADP アデニール酸，デフォスフォピリジンヌクレオチド，イノシン酸，グルコースモノ燐酸，フラクトース2燐酸，イノシンはイオン交換樹脂との操作によつて分解せず，一方アデノシンはこの操作中に加水分解するがその量は極めて僅かである。この定量法によると，生存時のタラの筋肉にはリボースは殆んどなく，死後漸次増加し，グルコースは死ぬ前の疲労の相違によつて 8〜32 mg/100 g を示す．ニシンも大体この程度である。（尾藤）

Bluegill sunfish の内因性窒素の排泄　S. D. Gering: *Physiol. Zöol.*, **28**, 283〜289 (1955). 魚類の栄養に関する研究の一環として bluegill sunfisn (*Lepomis macrochirus*) の蛋白質必需量を測定した。10.9〜168.8 g の魚を3日間絶食させた後，魚 50 g 当り 1 kg cal に相当するグルコース溶液を毎日経口的に投与しながら5日間飼育し，排泄された窒素量を micro-Kjeldahl 法で定量した。その結果魚体重と排泄窒素量の間に次式で表わされる関係がみられた。$\log y = -0.0282 + 0.5394x$ 但し，y: 排泄窒素量 mg/day, x: 実験開始時の体重 (g). 熱量消費 1 kg cal に対する（体重 50 g に相当）bluegill sunfish の内因性窒素の排泄量は 7.7 mg/day で，蛙で得られた結果と略々一致したが，定温動物の約3.5倍に相当し，変温動物と定温動物の蛋白質代謝は根本的な差があると考えられる。（岡市）

タラ筋肉にアスタキサンチン出現　K. Baalsrud: *Nature*, **178**, 1182〜1183 (1956). 甲殻類の色素として知られているアスタキサンチンは単細胞の藻類から魚類に至るまで色々の生物に見出されている。魚では皮膚の色素細胞に拡く分布しているが，筋肉中に存在しているのは鮭鱒類だけである。ところが偶々町の魚市場で入手したタラ (*Gudus callarias L.*) の肉が顕著な赤い色をしており，サケ肉の色に似ていたので，分析した結果次のことが判つた。この色素のアセトン抽出液の吸光曲線はアスタキサンチンのそれとよく一致した。またこの色素のエーテル溶液を重曹溶液で洗つたが色素はこの溶液に移らなかつたから，恐らく色素の大部分はエステル型と思われる。このような突発的な色素の出現の原因は未だ不明である。（金光）

生命の起源に於けるγ線照射の役割 R. Paschke, R. W. H. Chang and D. Young: *Science*, **125** (3253) 881 (1957). 生命の起源の前駆的なものと考えられる生命のない炭素化合物の混合物からアミノ酸を含む有機化合物をつくる試みは例えば CO, NH_3 及び H_2O から無声放電を利用して行うなど多くの研究がなされている。著者等の実験では 45 g の炭酸アンモニウムをアンプルに脱気封入し，それに 4000 キューリーのコバルト 60 からのγ線を

約 15 日間照射（照射量 500 万レップ）し，その結果約 0.2 g の昇華物と白色粉末を得た。赤外線分析の結果昇華物はギ酸アンモニウム，またペーパークロマトグラフィーにより粉末はグリシン，ギ酸アンモニウム，アラニン及びニンヒドリン反応陽性の未知物質の混合物であることの検出と確認を行つている。これに関連して著者等は更に地球上に於ける γ 線照射によりアミノ酸の生成と蓄積が行われる過程を述べ，陸地と大洋の創世後不毛の地球上に照射によるこのような反応に必要な放射能の存在について，今日の放射性鉱物の存在などからその可能性を論じている。（平野（敏））

照射殺菌した牛肉の脱臭剤として活性炭素の使用
F. TAUSIG and M. P. DRAKE: *Food Research* **24** (2) 224～227 (1959). 放射線による食品貯蔵に際して発生する悪臭を除去するために，粒子の異なる数種の活性炭素，ボーキサイト，フーラーアース，珪酸マグネシウム等の吸着剤を封入した袋を，加熱処理した牛の挽肉と共に缶に詰め，脱気若くは N_2 ガスを封入して 4.6×10^6 r 照射後 72°F で 6 カ月間貯蔵し，臭の変化を官能検査により調べたところ，吸着剤を加えない対照に比べ活性炭素を使用したものでは，かなり臭が少なかつたが，炭素以外の吸着剤では殆んどその効果がなかつた。次に炭素のみを使用し生肉と調理した肉について同様に試験を行い，常温若くは加熱して臭を評価すると，調理した肉では加熱により常温の時よりも僅かしか悪臭を増加しないが，生肉ではそれが著しく大きいことを認めた。更に，加熱処理した肩肉をエナメル缶に詰め，2,3 の活性炭素を使用して同様に試験を行い，対照は貯蔵期間の経過に伴い悪臭を増加するが，炭素を使用すると 4 カ月後には臭が著しく減じその後僅かに増加することを認めた。この結果から照射臭の成分を確認する一つの手段として活性炭素の使用が期待される。しかしながら活性炭素の使用により実用できるまで照射臭を軽減出来るか，或いはまた食品特有の香気までも失われないか等については検討の余地がある。（外山）

***B. cereus* 芽胞による glucose 及び hexose phosphate の酸化経路**
R. DOI, H. HALVORSON and B. CHURCH: *J. Bact.*, **77** (1), 43～54 (1959). *B. cereus* 芽胞の sonic extracts を用いて glucose の酸化経路を追求した。従来の研究によると，*Bacillus* 属の芽胞による glucose, gluconate, 2KG, pyruvate の酸化は phosphorylation を伴わない酸化であることが推定されている。最初 glucose は DPN を助酵素とする glucose dehydrogenase により gluconate に酸化され，続いて TPN を助酵素とする gluconate dehydrogenase により 2KG に酸化される。2KG は ATP と Mg イオンの存在の下で 2-Ketogluconokinase により 2K6PG に燐酸化される。2K6PG の 1 部は HMP 経路を通つて Pyruvate に変化する。即ち 2K6PG は TPNH 及び DPNH と共に 2K6PG reductase により 6PG に還元され，6PG は DPN と TPN を助酵素とする 6PG dehydrogenase により R5P に酸化され，更に Ru5P と推定される Ketopentose-5-P と Sedoheptulose-7-P を経て F6P に変化する。F6P は phosphohexoisomerase により G6P に変化し，これは再び 6PG に酸化される。6PG の 1 部はまた 2K3D6PG を経る別経路によつて pyruvate と G3P に分解するらしいが，この酵素（6PG dehydrase）は非常に不安定で確認することができなかつた。また 2K6PG の 1 部は 6PG を経ない未知経路により直接に pyrauate に変化する。（横関）

細菌芽胞懸濁液から栄養菌体を除去する簡便法
S. K. LONG and O. B. WILLIAMS: *J. Bact.*, **76** (3), 332～332 (1958). 細菌芽胞を取扱う実験において，最も困難な問題の一つは芽胞未形成の細胞及び未溶解の栄養菌体を除去することである。今迄報告された種々の方法は *B. stearothermophilus* 及び *B. cereus* ではあまり良い結果が得られなかつたが，次に述べる方法によつて満足できる結果が得られた。芽胞形成後の培地を 2000 rpm で 1 時間遠沈し，上澄を除いてから，沈澱に硝子球と冷却殺菌水を加え，振盪して芽胞及び栄養菌体をバラバラにする。これを遠沈すると，上層に栄養菌体，下層に芽胞と色の異なる 2 層に分離する。冷却殺菌水を加えて遠沈管を静かに廻して，水が渦を巻くようにすると，上層の栄養菌体が分離するからこれを除く。この操作を 3 回繰返すと殆んど芽胞だけを得ることができる。（横関）

糖液の褐変-III α-, ω-, 及び α-, ω-Amino acid による Glucose 溶液の褐変に対する pH の影響
J. C. UNDERWOOD, H. G. LENTO, JR. and C. O. WILLITS: *Food Research*, **24** (2), 181～184 (1959). glycine, DL-α-alanine, DL-β-alanine, DL-α-aminobutytic acid DL-γ-aminobutyric acid, 2.4-diaminobutyric acid, DL-norvarine, δ-aminovaleric acid, DL-ornithine·HCl, DL-norleucine, ε-aminocaproic acid, DL-lysine·HCl の 12 種の amino acid を 0.1 mol の glucose 溶液に溶解し，各種 amino acid の 0.1 mol 溶液を作る。これらの amino acid 溶液と対照として glucose だけの溶液を燐酸塩緩衝液で pH を 5, 6, 6.5, 6.8, 7, 8, 9 に調整し，その 5 ml を封管中で 114°C, 20 分間加熱した後，500 mμ における吸収を測定し amino acid による glucose 溶液の褐変に対する pH の影響を検討した。α-amino acid の場合は pH 5～6.8 では殆んど褐変しなかつたが，pH 7, 8, 9 では褐変した。ω-amino acid では pH 6.5～9 で褐変し，特に炭素数 4 の amino acid では著しかつたが，pH 5 と 6 では殆んど褐変しなかつた。α, ω-amino acid の場合は，どの pH 値でも炭素数 4 の amino acid では褐色は弱かつたが，炭素数が 5, 6 になると著しく褐変し pH

値が高くなる程著しかつた。ただし pH 5 と 6 の場合だけは炭素数に関係なく褐色は弱かつた。一般に pH 値が高くなる程褐変は著しく，対照の glucose だけの溶液でも pH 6.8 以上になると僅かづつ褐変した。(小泉)

内臓ぬき Haddock の品質の迅速判定法 B. E. PROCTOR, J. T. R. NIKERSIVALLI, R.K. SMITH and J. STERM: *Food Technology*, **13** (4), 224～227 (1959). 魚の眼の眼漿は鮮度良好の時には澄明であるが鮮度低下に伴つて次第に黄色を帯びついには溶血作用のため赤色になる。この眼漿の変化を屈折率で表わし魚の鮮度の指標とする一つの鮮度判定法を検討した。ごく新鮮な内臓ぬき Haddock を水氷で 33～34°F に保ち 36～40°F の冷蔵庫に一定期間貯蔵後，眼漿について屈折率を測定するとともに，吸光度や生菌数も測定し，また魚肉についてトリメチルアミン-N(TMA-N) の測定と魚肉を 400°F, 20 分間加熱処理したものの官能検査を行つてそれらの結果を比較した。屈折率，吸光度測定用の試料には，取り出した Haddock の眼球の後部に傷をつけ，眼漿をビーカーに受け，遠心分離して上澄液を分取し，更にグラスウールで沪過したものを用いた。屈折率は Abbé の屈折計を用いて 20°C で測定し，吸光度は上記供試溶液 2 ml に pH 7 の Beckman No. 351 の緩衝溶液 8 ml を加えて，ルメトロンの比色計で 420 mμ に於ける吸光度を測定した。この結果，眼漿の屈折率は官能検査の結果とよく一致し，鮮度の低下とともに増加した。魚の鮮度低下に伴う眼漿の物理的変化は，細菌が初期腐敗以前の魚の眼漿から検出されなかつたことから，細菌の作用によるのでなく従つて酵素によつて引き起されるものであると思われる。(小泉)

雑　　録

○中国四国支部5月例会　昭和34年5月30日　於内海区水産研究所

1. マエソ属の日間捕食活動について……………… 花岡　資・°林　知夫，山口義昭（内水研）
2. エビ類の食性に関する研究 ………………………………… 安田治三郎（内水研）
3. パルプ廃水の浅海に於ける影響について ……………………… 新田忠雄（内水研）

会誌・論文集 合本用ファイル (B5判) 実費頒布御通知



水産学会誌1年分を簡単に製本出来る。

昭和23年度 (14巻) 迄は1冊に2ヶ年分が入ります。

種類は厚さ 4.5cm と 6cm の2種類あります。

冊誌を傷めず保存できる。

穴をあけず，糊も使わず合本出来る。

中の何れでも取外しが簡易。

頒価 ¥120　〒 ¥20

御希望の向は代金を添え日本水産学会事務局へ御申越下さい。

●学会所定原稿用紙価格　金 100 円

昭和三十四年六月二十日 印刷
昭和三十四年六月二十五日 発行

第二十五巻 第二号

本号定価 130 円
(送料別)

編集兼発行者　久保伊津男
東京都港区芝海岸通り6丁目 東京水産大学内

発行所　日本水産学会
東京都港区芝海岸通り6丁目 東京水産大学内
振替口座 東京 59529番
電話 (45) 2200番

印刷者　笠井康頼

印刷所　株式会社 国際文献印刷社

発売所　株式会社 国際文献印刷社
東京都新宿区山吹町184
電話 (34) 7446

SURFACE CONFIGURATIONS OF BELLY INTEGUMENT OF SOME GOBIOID FISHES AND IN COMPARISON WITH A TREE-FROG

Masao KIMURA*

(Received March 20, 1959)

Coincidence of mud-skippers and tree-frogs in their behavior of keeping their body from falling down is evident. Similar act is also apparent in ordinary gobioid fishes other than mud-skippers in staying on bottom of a stream. Analysis of mechanism of the resistance, however, remains to be much desired. The present study was carried out under supervision of Dr. A. Terao to whom the present author's hearty thanks are due.

Material and Methods

Live specimens of the mud-skipper, *Periophthalmus cantonensis* (Osbeck), the tree-frog, *Hyla arborea japonica* (Günther), and the gobioid fish, *Acanthogobius flavimanus* (Temm. & Schl.) were obtained in Miyazaki City. A preserved one of the mud-skipper, *Boleophthalmus chinensis* (Osbeck) from Ariake sands was carefully reared by Mr. Imamura. Observation in life was supplemented by examination of dead ones with Suzuki's Universal Microscopical Printing Method (usually abbreviated as SUMP Method) which consists of scrutiny of surface configurations of any body imprinted on a thin celluloid film.

Results

As shown Fig. 1 *Periophthalmus cantonensis* rests on a vertically set glass-pane with its belly closely attached to it. A thin sheet of intermediate water extends from chin to tail and it certainly contributes not to fall the body, not only by the function of sucker. The tail is invariably seen slightly bent to help stay. But the surface configurations of belly integument play remarkably an important rôle in the act. Fig. 2, A, illustrates a regular arrangement of nipple-like tubercles which cover an entire ventral surface from the posterior of sucker to the caudal. The structure reminds one of the device wrought on the surface of moter car tire for prevention of slippery. Each tubercle as a whole is a transformed ventral scale and strengthened by several annuli set at successive levels. It is much larger than an ordinary ventral scale in front of the sucker, measuring mostly 0.3×0.57 mm in a specimen 62 mm in body length.

Nearly the same configuration was obtained in the other species of mud-skipper,

* Fish. Dept. Fac. Agri. Univ. Miyazaki

Boleophthalmus chinensis, as picture in Fig. 2, B. The tubercle is 0.54 mm long and 0.59 mm wide on average in a specimen 107 mm in body length.

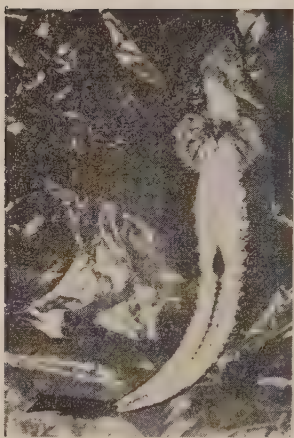


Fig. 1. Showing a specimen of the mud-skipper, *Periophthalmus cantonensis*, resting on a vertically set glass-pane. The attached surface is precisely defined by border line of the intermediate layer of water, and stands out brightly against otherwise darker body parts.

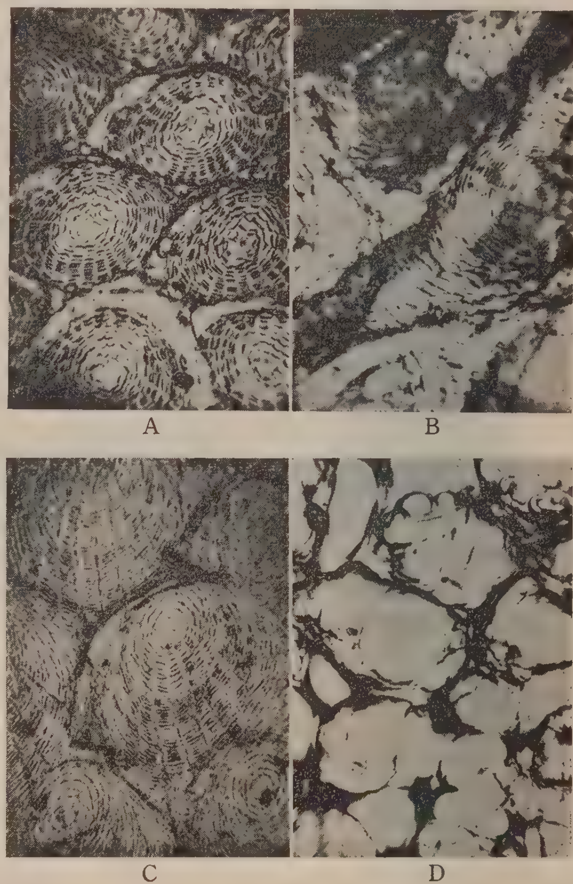


Fig. 2. Showing surface configurations of belly integument of some fishes and a frog (A, *Periophthalmus cantonensis*; B, *Boleophthalmus chinensis*; C, *Acanthogobius flavimanus*; D, *Hyla arborea japonica*). $\times 60$.

A close resemblance is clearly seen in the corresponding bodily part of an common gobioid fish by the name of *Acanthogobius flavimanus*. The detailed configuration is referred to Fig. 2, C. The transformed scale has an average dimension of 0.83×0.78 mm in a specimen with a body length of 72 mm. Two points of resemblance are also worth noting. The fish assumes almost the same posture as that of mud-skipper, viz., slight bending of tail, when settled on bottom of a stream, and often resorts to a kind of skipping when locomotion is necessary.

Even in the tree-frog, *Hyla arborea japonica* (Fig. 2, D), presents a significant like of the above-mentioned ones. Its adhesion to an erect substratum is assisted by negative pressure produced by contact of belly skin. Microscopical examination reveals a rather irregular setting of rounded tubercles. Irregular as it is, general resemblance to fish scale arrangement is beyond doubt, a clue indicative of piscine ancestry of amphibia. The tubercles are devoid of annuli and vary greatly in size, 0.4×0.7 mm in a specimen 3.4 cm long.

It is well known that both mud-skippers and tree-frogs utilize water suspended between their belly and substratum for maintenance of their life when they are exposed to air. It would be superfluous to say that the tuberculation helps hold much more water than flatness. It is hoped that another paper dealing with observation on ventral skin of lophioid fishes will be published in near future.

STUDIES ON PLANKTON OFF THE WEST COAST OF KYUSHU II. ON CONDITIONS FOR THE VERNAL BLOOMING OF PHYTOPLANKTON

Yoshimasa ENOMOTO*

(Received March 20, 1959)

Introduction

In the waters where the Tsushima Current flows along the west coast of Kyushu, the vernal blooming of phytoplankton takes place in early spring season, chiefly from February to March in every year (Enomoto, 1957).

Here also many fishes of economical importance spawn at the same season, and then the larvae hatch out from the spawned eggs to grow chiefly on microcopepods, which feed on the mentioned phytoplankton, moreover "Maiwashi", *Sardinia melanosticta* (Temm. et Schl.), one of the most valuable fishes in this sea area, feed directly on the phytoplankton, therefore it may be of some use to throw a light on the conditions for the phytoplakton blooming.

Sverdrup (1952) developed some logical analysis on conditions of this vernal phytoplnkton blooming from the point of the radiation energy, and applied his theories to the Norwegian Sea (66°N., 2°E. Gr.) in the spring of 1949 and fairly good correspondence was obtained between the logical reasonings and the observed data and the author tried to apply his reasonings to the waters adjacent to the west coast of Kyushu, and got to some assessment.

In promoting this work, the auhtor is greatly indebted to Mr. Ito, Director of the Seikai Regional Fisheries Research Laboratory, Dr. Tsujita of our laboratory and Mr. Akiyama of Nagasaki Marine Observatory, for their genial encouragements and fitting advices and his sincere gratitudes are also due to Nagasaki Marine Observatory and the member of the Investigation Plan of the Tsushima Current for allowing him to use their valuable data.

Logical reasonings and Assumption

The logical reasonings and assumptions used here were proposed by Sverdrup (1952) and after him it is necessary that in the surface layer the production of organic matter by phytosynthesis exceeds the destruction by respiration in order that the vernal blooming of phytoplankton shall begin.

While Gran and Braarud (1935) have pointed out that production cannot exceed destruction if there exists a deep and well mixed top layer and their reasoning is that within

---

* Seikai Reg. Fish. Res. Lab.

Contributions from the Seikai Reg. Fish. Res. Lab., No. 105.

a well mixed layer the plankton organisms are about evenly distributed, but a net production takes place only above the compensation depth, whereas below the compensation depth there is a net loss of organic matter, so the total phytoplankton population cannot grow if this loss exceeds the net production.

Sverdrup (1952) developed these reasonings and got to a formula:

$$\frac{D_{cr}}{1-e^{-kD_{cr}}}=\frac{\bar{I}_e}{kI_c}$$

D_{cr}: Critical depth where the total production and the total destruction of the upper water column meet.

k: Extinction coefficient.

$\bar{I}_e$: Mean value of effective radiation energy.

I_c: Radiation energy at compensation depth.

Here if critical depth outdoes depth of mixed top layer, the conditions are favorable to the phytoplankton flowering, and vice versa (Fig. 1).

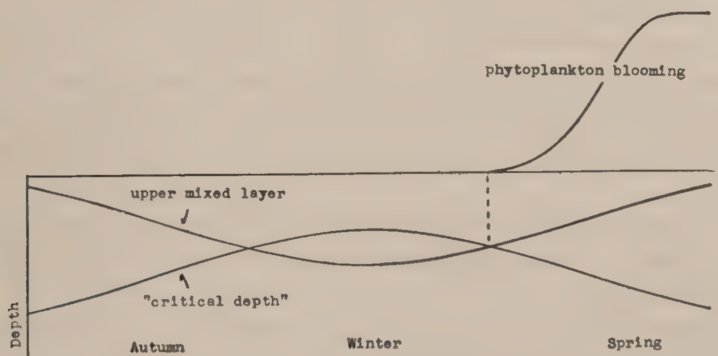


Fig. 1. Schematic representation of the vernal phytoplankton blooming based on the depths of upper mixed layer and critical depths.

Assumptions in this calculation are briefly stated as follows:

1. There exists a thoroughly mixed top layer.
2. Within the top layer the production is not limited by lack of plankton nutrient salts.
3. Within the top layer the turbulence is strong enough to distribute the plankton organisms evenly through the layer.
4. Within the top layer the extinction coefficient of radiation energy is constant.
5. When dealing with photosynthesis it is not necessary to consider the energy at waves-lengths shorter than 4200 or longer than 5600 Å.
6. The production of organic matter by photosynthesis is proportional to the energy of the radiation at the level under consideration.
7. The energy at the compensation depth is known.

Results

An application of the above mentioned reasonings was tried at the midst of the Gotō Nada shown as a cross in Fig. 2 (32° 20′ N., 129° 20′ E. Gr.) and thickness of the top mixed layer was estimated approximately from the vertical temperature distributions, observed principally twice a month, and when necessary the upper and lower limits were estimated.

Thickness of the top mixed layer can clearly be defined above about 30 meters in summer by dint of the clear summer spring-layer, whereas rather vaguely as from 50 to 300 meters in winter when clear spring-layer can hardly be observed.

As any datum of the radiation energy on the sea was not available, the data measured with Pyrheliometer at Nagasaki Marine Observatory (32° 44′ N., 129° 53′ E. Gr.) were used supplementally, which were expressed as the radiation energy on a horizontal surface, g. cal.-cm.$^{-2}$ hour^{-1}....I_0.

From the value of the radiation energy, the effective energy $\bar{I}_e$ was computed by reducing the reflected fraction 0.03 and multiplying the effective coefficient 0.2.... $\bar{I}_e=0.2(1-0.03)I_0$ (Sverdrup, 1949), thus the every five day's mean of the effective energy was calculated.

Naturally the effective energy was meagre in winter season as about 1.0 to 2.5 g. cal. cm.$^{-2}$ hour^{-1}, and increased gradually towards summer as 2.0 to 3.0 in March, 3.0 to 4.0 in April and 4.0 to 4.5 in summer at summit, with little difference from year to year.

The extinction coefficient k was computed as $1.7/T_r$ after Poole and Atkins (1928) of which T_r shows the transparency measured with the Secchi disc in meter and was observed once a month.

T_r ranged from 15 to 26 meters but most were between 15 to 20 meters and seasonal change of T_r was hardly observed, then the critical depths were computed from the obtained k, I_e, and $\bar{I}_c$* of which two values were used as I_c, 0.13 after Jenkins (1937) and 0.15 g. cal. cm.$^{-2}$ hour^{-1} after Pettersson et al. (1934).

Moreover the compensation depths were calculated from $\bar{I}_e$, I_c (0.15 g. cal. cm.$^{-2}$ hour^{-1}) and k:

$$I_c=\bar{I}_e \cdot e^{-kD_c}\ .$$

The compensation depths ranged from about 40 to 50 meters in January to about 60 to 70 meters in May, then D_{cr}/D_c was computed as an indication of the productivity (Gran and Braarud, 1935) and it ranged from about 2 in January to about 3 to 4 in May.

Obtained data of the upper mixed layer, effective energy, transparency, extinction coefficient, critical depth, compensation depth, and D_{cr}/D_c are tabulated in Table 1 and illustrated in Fig. 3.

---

* Sverdrup used only 0,15 g. cal. cm.$^{-2}$ hour^{-1} as I_c after Pettersson et al. (1934).

Table 1. Results of observations and calculations about effective radiation energy ($\bar{I}_e$), transparency (T_r), extinction coefficient (k), critical depth (D_{cr}), compensation depth (D_c), ratio critical depth to compensation depth (D_{cr}/D_c) and upper mixed layers. These values were based on data of Nagasaki Marine Observatory.

Date	$\bar{I}_e$	T_r	k	D_{cr}		D_c	D_{cr}/D_c	Upper mixed layer (m)
				I_c=0.13	I_c=0.15			
1953 10 1	2.754			290	250	75.0	3.33	
5	3.064			324	275	77.9	3.53	
10	2.721			287	247	74.9	3.30	
15	3.232	26	0.073	350	294	80.5	3.65	50
20	2.250			236	205	70.0	2.93	
25	2.112			220	192	68.4	2.81	
30	2.040			175	151	54.8	2.76	
11 4	2.400			205	178	58.2	3.06	
9	2.400			205	178	58.2	3.06	50～330
14	1.960			168	145	53.9	2.69	
19	2.344			200	174	57.6	3.02	
24	1.256	19	0.090	107	93	44.5	2.09	110
29	2.424			239	207	67.1	3.09	
12 4	1.392			137	119	53.7	2.21	
9	1.240			122	106	51.0	2.08	
14	1.848			182	158	60.4	2.62	
19	1.632	22	0.078	161	139	57.6	2.41	130
24	1.544			152	132	56.2	2.35	
29	1.704			168	146	58.6	2.49	
1954 1 3	1.272			109	94	44.6	2.11	
8	2.024			173	150	54.6	2.75	110～200
13	0.840			72	62	36.1	1.72	
18	0.872			75	64	36.8	1.74	
23	1.504			129	111	48.4	2.09	
28	1.608	19	0.090	137	119	49.8	2.39	100
2 2	1.800			138	120	46.1	2.60	
7	2.216			170	148	50.8	2.91	
12	2.624	17	0.100	202	175	54.0	3.24	90
17	1.904			146	127	47.9	2.69	120～200
22	2.960			228	197	56.0	3.52	
27	1.928		0.085	174	151	56.8	2.66	
3 4	2.596			235	207	56.8	3.29	
9	2.920			264	230	63.3	3.59	110～210
14	3.912	20	0.085	354	307	65.9	4.24	100
19	3.528			319	277	72.8	3.95	
24	4.192			379	329	70.1	4.45	50
29	3.800			344	299	74.0	4.16	
4 3	2.392	18	0.094	196	169	58.4	2.89	
8	3.848			315	273	68.4	3.99	
13	3.008			247	213	63.2	3.37	100～220
18	3.568			293	253	66.8	3.79	
23	2.992			245	212	63.1	3.36	
28	2.744			225	195	61.3	3.19	
5 3	3.872			263	228	54.3	4.20	
8	3.624	15	0.113	253	213	52.1	4.09	25
13	3.888			264	229	54.4	4.21	20
18	1.352			92	79	36.9	2.14	
23	2.928			198	172	49.7	3.46	
28	2.832			194	167	49.0	3.14	
6 3	3.776							
8	1.800							
13	2.520	24	0.071					
18	3.776							
23	3.832							
28	2.392							

Table 1. (Cont.)

Date			$\bar{I}_c$	T_r	k	D_{cr}		D_c	D_{cr}/D_c	Upper mixed layer (m)
						I_c=0.13	I_c=0.15			
1954	7	2	2.184							
		7	2.016							
		12	2.480							
		17	2.568							
		22	2.896	15	0.113					
		27	3.176							
	8	1	4.008							
		6	4.400	22	0.078					
		11	4.488							
		16	2.432							
		21	4.424							
		26	4.328							
		31	3.480							
	9	5	2.896							
		10	2.800							
		15	3.480	24	0.071					
		20	4.000	15	0.113					
		25	2.384							
		30	2.480			245	212	67.2	3.13	
	10	5	2.344			231	200	66.4	3.01	
		10	2.840	22	0.078	280	243	71.0	3.42	50
		15	3.176			313	278	73.7	3.78	
		20	2.888			285	250	71.4	3.50	
		25	2.600			256	222	68.9	3.23	
		30	2.840			206	178	52.4	3.40	90~100
	11	4	2.904			210	182	52.7	3.45	
		9	2.264			164	142	48.4	2.93	
		14	1.986	16	0.106	143	123	45.8	2.69	75
		19	2.200			159	138	47.8	2.89	
		24	2.334			170	146	48.8	2.99	
		29	1.992			170	148	54.2	2.73	
	12	4	1.856	19	0.113	159	137	52.4	2.62	75
		9	0.712			61	53	32.7	1.62	
		14	1.312			112	97	45.5	2.13	
		19	1.840			157	136	52.6	2.59	
		24	1.960			168	145	53.9	2.69	
		29	1.768			151	131	51.8	2.53	
1955	1	3	1.136			87	76	37.7	2.02	
		8	1.632			126	109	45.1	2.42	
		13	1.560	17	0.100	120	104	44.2	2.35	120
		18	1.216			94	81	38.1	2.13	
		23	1.224			94	82	38.2	2.13	
		28	1.640			126	109	45.1	2.42	50~150
	2	2	2.544			196	170	53.4	3.18	
		7	1.688			130	112	45.7	2.45	
		12	2.232			172	150	51.0	2.94	
		17	2.536	17	0.100	195	170	53.4	3.18	120
		22	2.456			189.	164	52.4	3.13	200~250
		27	1.380			101	81	37.1	2.18	
	3	4	2.344			169	138	45.9	3.01	
		9	2.416			176	142	46.4	3.06	
		14	2.928	15	0.113	214	172	49.7	3.46	50
		19	2.768			202	163	48.7	3.35	
		24	2.304			168	136	45.6	2.99	50~125
		29	2.416			177	142	46.4	3.06	
	4	3	3.448			234	204	52.4	3.89	
		8	3.480			240	207	52.6	3.94	50
		13	3.536	15	0.113	251	210	52.8	3.98	
		18	3.016			205	175	50.1	3.49	80~ 90

Table 1. (Cont.)

Date	$\bar{I}_c$	T_r	k	D_{cr}		D_c	$D_{cr}[D_c$	Upper mixed layer (m)
				I_c=0.13	I_c=0.15			
1955 4 23	3.640			247	212	53.3	3.98	
28	2.168			145	127	43.8	2.90	
5 3	2.576			245	212	65.7	3.23	
8	2.776			264	228	68.0	3.35	
13	4.144	21	0.081	394	341	77.3	4.41	30∼ 60
18	3.616			344	298	74.2	4.02	
23	4.280			408	352	78.1	4.51	
28	2.896			276	238	69.0	3.45	
1955 10 1	2.48			162	141	43.8	3.22	
5	2.40			157	132	43.2	3.06	
10	3.51			230	193	49.2	3.93	55∼100
15	2.71	14	0.121	177	149	45.2	3.29	
20	3.07			201	169	47.1	3.59	
25	2.76			180	152	45.5	3.34	
30	2.53			165	139	44.1	3.15	
11 4	2.59			212	184	57.2	3.22	60∼100
9	2.69	18	0.094	220	191	58.0	3.29	
14	2.46			202	174	56.2	3.09	70∼130
19	2.11			173	150	53.0	2.83	
24	2.34			192	166	55.2	3.01	
29	1.67			109	92	48.9	1.88	
12 4	2.53			216	188	59.3	3.17	
9	2.13	19	0.090	182	158	55.7	2.84	50∼130
14	2.05			175	152	54.8	2.82	
19	1.67			142	124	50.5	2.44	
24	2.13			182	158	50.8	3.11	
29	2.13			182	158	50.8	3.11	
1956 1 3	1.42			116	100	66.9	1.48	
8	2.13			93	80	40.6	1.97	
13	2.09			171	148	77.4	1.91	
18	1.23			183	158	54.2	2.92	60∼225
23	2.34	18	0.094	110	95	44.0	2.15	210∼250
28	2.25			184	160	54.4	3.00	
2 3	2.73			224	194	58.3	3.33	
8	2.44	18	0.094	200	173	56.0	3.09	100∼
13	2·38			195	169	55.5	3.05	
18	2.09			173	148	53.0	2.79	
23	3.05			250	216	61.0	3.54	
28	1.46			120	104	45.9	2.27	
3 3	2.67			241	209	63.9	3.27	
8	2.11	20	0.085	190	165	58.9	2.80	125∼
13	2.71			244	212	62.2	3.41	
18	2.22			200	174	59.3	2.90	
23	2.38			214	186	61.4	3.06	
28	3.19			287	250	67.9	3.69	100∼180
4 3	3.86	17	0.100	297	257	61.3	4.19	80∼120
8	2.34			180	156	51.9	3.01	
13	3.32			255	221	58.9	3.75	
18	3.74			288	249	60.7	4.10	10∼ 90
23	2.40			185	160	52.3	3.06	
28	3.71			285	247	60.5	4.08	
5 3	3.32			284	246	64.9	3.79	
8	2.27			194	169	57.0	2.97	
13	2.28			195	170	57.0	2.98	
18	4.13			353	306	69.5	4.40	5∼ 40
23	2.05	19	0.090	175	152	54.8	2.80	10∼ 40
28	3.36			288	250	65.2	3.84	10

Discussion

From these results it is said first that in this sea area the upper mixed layers were almost equal to or hardly outdid the critical depths even in the midwinter when the radiation energy was the faintest and the upper mixed layers reached deepest and this suggests that the period when the production by photosynthesis was smaller than the respiration may have been very short or absent from the view point of radiation energy.

Fig. 2 shows the estimated sea area where the critical depths outdid the sea depths in midwinter when the radiation energy was the faintest and this may well explain the early onset of the phytoplankton flowering in this sea area, a little different from the conclusion by Sverdrup in the Norwegian Sea where the upper mixed layer outdid the critical depth until the end of April with a concordant outburst of phytoplankton in May.

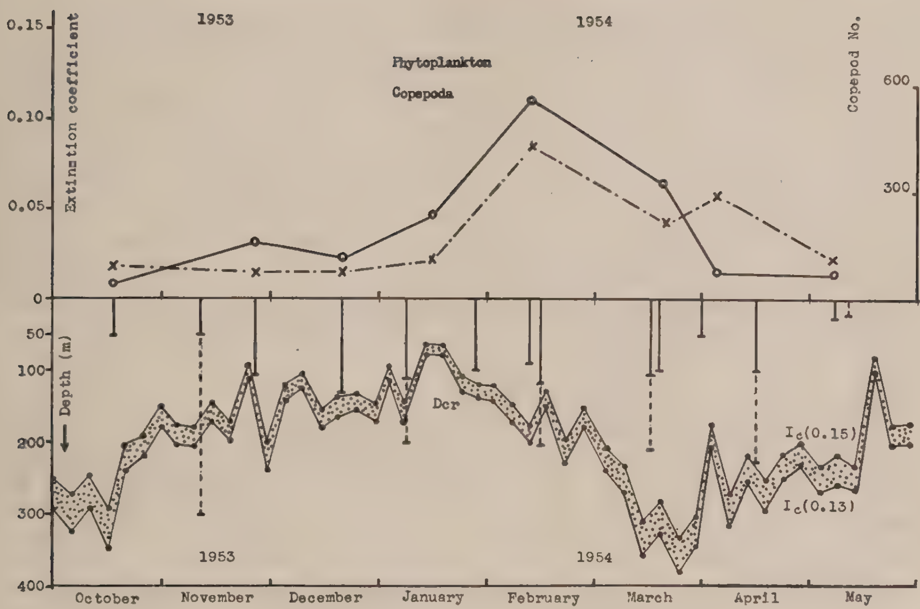


Fig. 2. Comparison between critical depths and depth of the sea bottoms in January, 1954.
The large dots show the observed stations, the blank areas those where critical depths are deeper than sea bottoms, and dotted areas those reversed. × ····The midst station of Goto Nada.

This discrepancy in period of phytoplankton blooming may be safely attributed to the fact that the sea area under consideration is far more southly situated (32° 20′ N., 129° 20′ E. Gr.) than the Norwegian Sea (66° N., 2° E. Gr.), consequently the radiation energy should be more intense in the former than in the latter, since the values of k are approximately same in both areas.

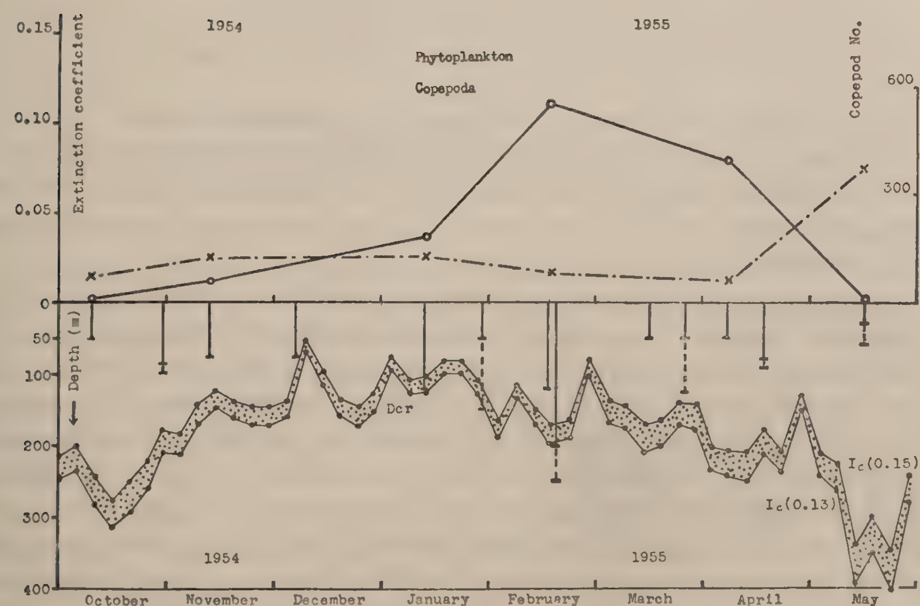
As the season passes away the phytoplankton blooming may become overwhelming, because the larger the critical depth over the upper mixed layer becomes, the larger the net production if the other conditions are favorable and this logical assession is fairly well confirmed with the succession of the phytoplankton observed by chlorophyll quantities shown in Fig. 3 (Enomoto, 1957).

Apart from yearly change, the phytoplankton bloomings were at their summits from February to March and quickly fell off in April and the decrease in phytoplankton concentration in April may be attributed, if not all, to the remarkable increase of the feeding intensity by zooplankton indicated with numbers of copepod, then what facter else would control the phytoplankton blooming in the sea under consideration ?



0.15
0.10
0.05
0
Extinction coefficient
1953
1954
Phytoplankton
Copepoda
Copepod No.
600
300
50
100
200
300
400
Depth (m)
Dcr
Ic(0.15)
Ic(0.13)
1953
1954
October
November
December
January
February
March
April
May

Fig. 3. (1)



0.15
0.10
0.05
0
Extinction coefficient
1954
1955
Phytoplankton
Copepoda
Copepod No.
600
300
50
100
200
300
400
Depth (m)
Dcr
Ic(0.15)
Ic(0.13)
1954
1955
October
November
December
January
February
March
April
May

Fig. 3. (2)

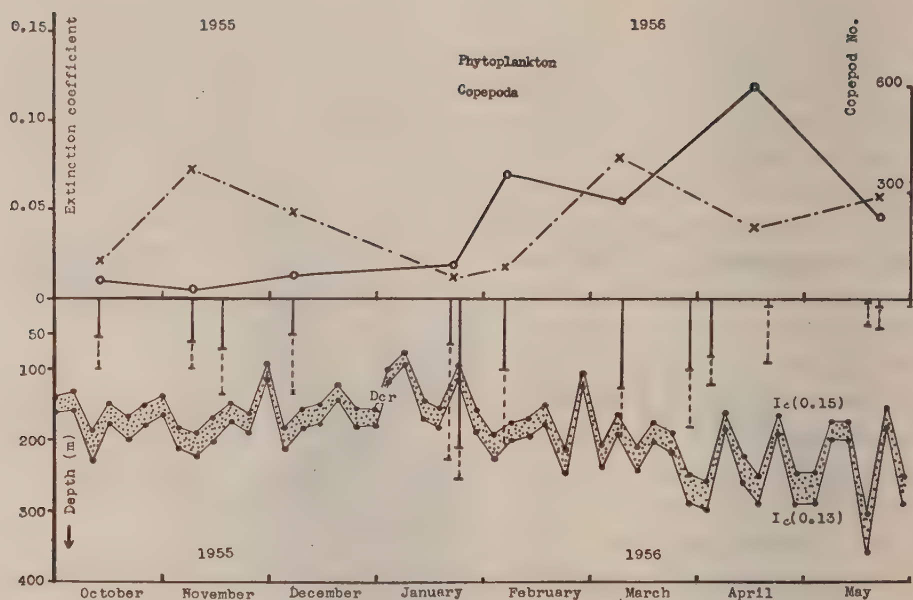


Fig. 3. Results of observations and calculation. White circles in upper column show relative quantities of phytoplankton extinction coefficient in 6600 Å, and crosses numbers of copepods expressed as "macrocopeped number" (Enomoto, 1956).

Vertical bars in under-column show upper mixed layers, of which broken lines upper and lower limits of those mixed layers.

(The critical depths are computed two values, one as I_c equals 0.15, the other as 0.13 g. cal. cm^{-2}. $hour^{-1}$).

On this point of view the assumptions set up first should be inquired.

Of them, the nutrient salts which were assumed to be adequate in the logical reasoning are worth inquiring, judged from the data of phosphate quantity in 1952 and spring of 1953 shown Fig. 4 (the measurement of the nutrient salts has been stopped in advanced years).

Phosphate was hardly present in October and December in the upper 30 to 75 m. mixed layer, but fairly rich in January when the phytoplankton blooming outset.

If this is the case in every year, the deficiency of the nutrient salts may be another possible limiting factor to check the outset of the phytoplankton blooming in the sea area under consideration and the reasoning is that with the intense stability of the sea water in summer the surface waters become short of nutrient salts, but as the surface water gets colder and heavier toward winter, the upper mixed layer becomes deeper and depper till the waters with rich nutrient salts in the deep are reached, even then the radiation energy is not so poor as to impede the flowering, so the phytoplankton blooming in this sea area outsets in winter or early spring and further investigations on this point are to be undertaken to ascertain this reasoning.

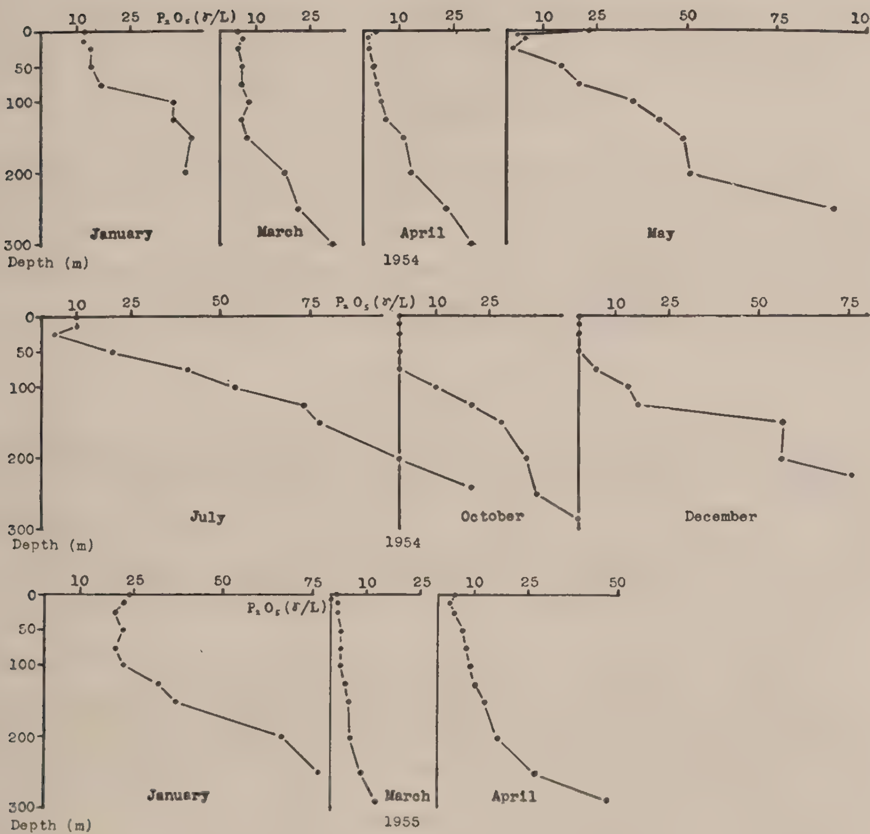


Fig. 4. Vertical distributions of phosphorus (P_2O_5 (γ/L) at Station 3 of the Nagasaki Marine Observatory, Lat. 32° 20′ N-Long. 129° 20′E, in the middle part of the Sea of Gotō Nada in 1954 and 1955.

Gran and Braarud (1935) estimated the critical depth to be about 5 to 10 times the compensation depth when the blooming of the phytoplankton prevails.

Sverdrup (1952) convinced their conclusions, stating the values before phytoplankton blooming were 2.9 to 4.0 and at the outset of the phytoplankton blooming 5.5, whereas the author gained 1.5 to 5.0 as D_{cr}/D_c through pre- and post-periods of phytoplankton blooming which occurred with about 3.0 of D_{cr}/D_c and a possible cause of this discrepancy may consist in the use of transparency to estimate the values of compensation depth.

Rather divergent values are offered as transparency: 1.25 in fresh water (Yoshimura, 1934), 2 to 2.8 (Clarke, 1946), 2 (Hogetsu, 1950) as the values of the ratio compensation depth to transparency.

Hanaoka (1950) asserted it might be rather doubtful to compute compensation depth from transparency without comprising considerable deviations from the true values

since the sea might be considerably fluctuated by the quantities and qualities of the organic suspended matters.

Summary

"Critical depth" was computed after Sverdrup's reasoning (1952) with a little modification in the waters adjacent to the west coast of Kyushu and it is assessed that in this sea area the shortage of the radiation energy may not be the largest factor to control the phytoplankton blooming in early spring and as another possible limiting factor, the plant nutrient salts are proposed.

References

1) ENOMOTO, Y.: Studies on plankton in the west coast of Kyushu. I. On the general seasonal successions of phytoplankton and zooplankton chiefly in 1954. *Bull. Seikai Reg. Fish. Res. Lab.*, **11** (1957).
2) GRAN, H. H. and BRAARUD: A quantitative study of the phytoplankton in the Bay of Fundy and the Gulf of Maine. *J. Biol. Bd. Can.*, **1** (**5**) (1935).
3) JENKINS, P. M.: Oxygen production by the diatom *Coscinodiscus excentricus* Ehrenberg in relation to submarine illumination in the English Channel. *J. Mar. Biol. Assoc, U. K.*, **22** (1937).
4) PETTERSSON, H., JOGLUND, H. and LANDBERG, S.: Submarine daylight and the photosynthesis of phytoplankton. *Ocean. Inst. Hoteborg, Meddelanden*, **10** (1934).
5) POOLE, H. H. and ATKINS, W. R. G.: Photoelectric measurements of submarine illumination throughout the year. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.*, **16** (1929).
6) SVERDRUP, H. U., JOHNSON, M. W. and FLEMMING, R. H.: The Oceans. *Prentice Hall, New York*, (1942).
7) SVERDRUP, H. U.: On conditions for the vernal blooming of phytoplankton. *J. du Conseil*, **18** (**3**) (1952).
8) TSUJITA, T.: On the observed oceanographic structure and the development of stratified water currents in the straits of Tsushima and the Sea of Goto-Amakusa in the western Japan. *Bull. Seikai Reg. Fish. Res. Lab.*, **1** (1954).

サンゴ海南西部におけるシロカワの漁場，漁期，釣獲率の年変化

中込　淳

(1959 年 4 月 8 日受理)

ANNUAL VARIATION OF FISHING GROUNDS, SEASONS AND RATE-OF-CATCHES OF WHITE MARLIN IN THE SOUTH-WESTERN PART OF CORAL SEA

Jun NAKAGOME*

I studied on the differences of fishing grounds (Fig. 1) of white marlin in each year from the distributions in respective year and period (Table 1, Fig. 2), on those differences of fishing seasons (Table 1) and rate-of-catches (catch number per hundred hooks) of the fish for each year from the annual and periodical distributions (Fig. 2) and periodical variations of mean rate-of-catch.

Consequently, it was presumed that a trend of decreasing product of 1957 and 1958 may not be attributable by a deviation of the fishing grounds or the seasonal change, but would be caused by falling of the rate-of-catch itself in the whole fishing grounds and seasons.

緒　言

現在知られているシロカワの主漁場は，サンゴ海南西部と印度洋東部であるが，その釣獲率（鈎 100 本当りの漁獲尾数）は，印度洋東部よりサンゴ海南西部の方が遙かに高率であつた[1]。しかるに，1957[2]，1958 年のサンゴ海南西部は釣獲率が著しく低下し，かなりの不漁となつた。

そこで，著者は，この現象が，漁場のずれ，漁期のずれ，釣獲率自体の低下の何れの原因によるものであるかを検討したところ，釣獲率自体の低下によるものであることが明らかとなつたので，ここに報告する。

この研究の発表を許され，御指導，御べんたつ下さつた神奈川県水産試験場永井三夫場長，英文摘要の作稿に当つて御指導下さつた河口喬太郎指導係長に対し，衷心より謝意を表する。

資料および方法

シロカワの年別，時期別分布は，三崎入港船については神奈川県水試，焼津，東京入港船については南海区水研が蒐集した資料のうち，10～30°S, 160°E 以西の海区，9～12 月に至る 225 航海の鈎数と漁獲尾数を抽出し，Fig. 1 および Table 1 に示す通りの場所別，時期別に整理して算出した釣獲率によつて表わした。

Table 1. Period and the index of the fishing season.

Index	Period
I	Sept. 1～20
II	Sept. 21～Oct. 10
III	Oct. 11～31
IV	Nov. 1～20
V	Nov. 21～Dec. 10
VI	Dec. 11～31

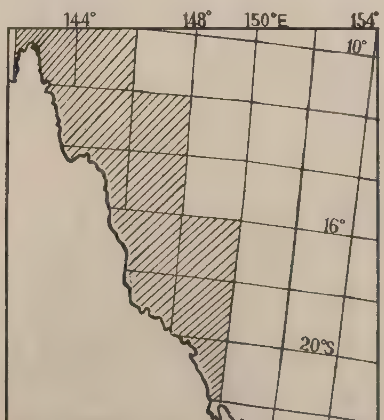


Fig. 1. Fishing grounds of white marlin. Oblique line part; Fishing grounds

また，漁場（釣獲率 0.5

* 神奈川県水産試験場 (Kanagawa Pref. Fish. Exp. Stat., Misaki, Miura, Kanagawa)

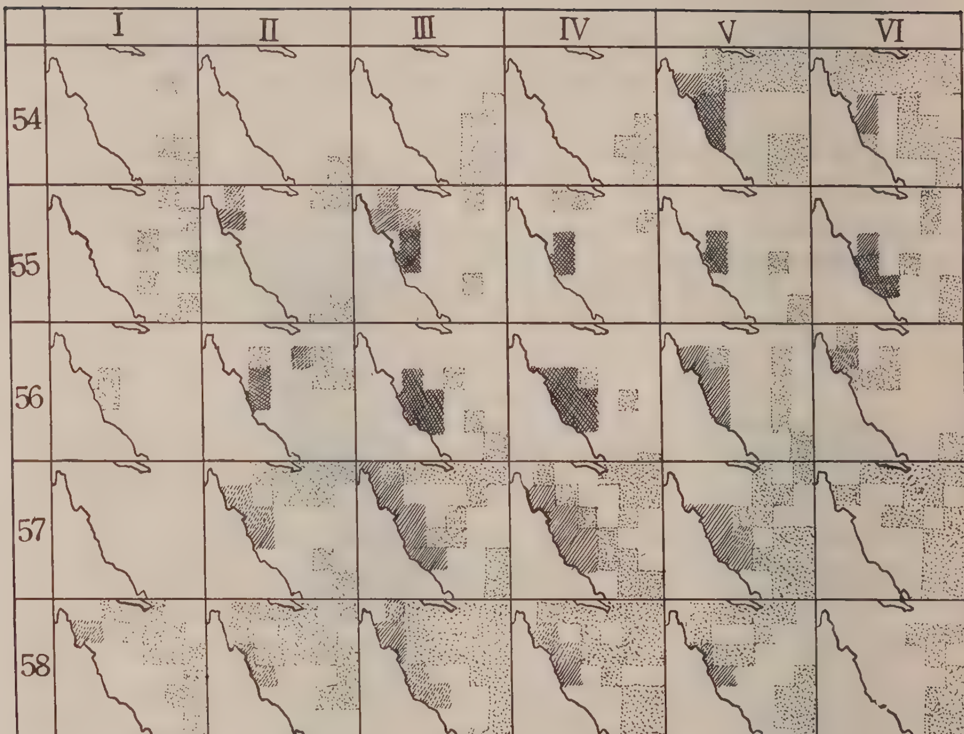


Fig. 2. Distributions of white marlin in each year and period.

Check part	;	Rate-of-catch	2.0<
Oblique line part	;	〃	1.0–2.0
Oblique dot line part	;	〃	0.5–1.0
Faint part	;	〃	<0.5

以上の海区，Fig. 1 の斜線の部分）の平均釣獲率の時期変化は，漁場内の，緯，経度 2° 区劃別に算出された釣獲率の平均値で表わした。

結果および考察

漁場の年変化についての結果は Fig. 2 に，漁期と釣獲率のそれについては Fig. 3 に示す。

Fig. 2 から明らかなように，漁場は，10°S 以南，148 乃至 150°E 以西の海域（Fig. 1 の斜線の

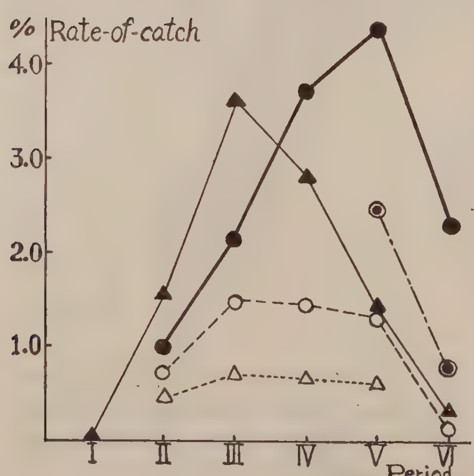


Fig. 3. Periodical variations of mean rate-of-catch in fishing grounds in each year (Fig. 1).

-·-·-⊙-·-·-; 1954
——●——; 1955
——▲——; 1956
----○----; 1957
·····△·····; 1958

部分）に限られ，且，年による差は殆んどみられない。

漁期は，Fig. 2, 3 から解るように，1955 年は Ⅲ～Ⅵ 期が好漁で，おそく，1956 年は Ⅱ～Ⅴ 期が好漁で，早くなつている。そして，1957, 1958 年は Ⅲ～Ⅴ 期が好漁で，釣獲率は Ⅲ, Ⅳ, Ⅴ の順に高く，1956 年と同型である。したがつて，漁期は，釣獲率の高い 1956 年と釣獲率の低い 1957, 1958 年の間には差がなく，むしろ，1955 年と 1956 年以降との間に差がみられる。

つぎに，釣獲率をみると，緯，経度 2° 区画毎の釣獲率においても (Fig. 2)，漁場の平均釣獲率においても (Fig. 3)，1954～1956 年と 1957～1958 年との間に著しい差がみられる。

すなわち，1957 年には，1954～1956 年にみられた釣獲率 2.0 以上の海区が全くなくなり，1958 年には釣獲率 1.0～2.0 の海区も極めて少なくなつている (Fig. 2)。したがつて，漁場の平均釣獲率も，1956 年以降年々低くなつており，1957 年は特に Ⅲ, Ⅳ 期，1958 年は漁期全般にわたつて低下している (Fig. 3)。

したがつて，1957, 1958 年の漁獲高の低下は，漁場のずれ，漁期のずれによるものではなく，全漁場，全漁期全般にわたる釣獲率の低下によるものと推定される。

摘　　要

1957, 1958 年のシロカワの漁獲高の低下の原因を調べるため，シロカワの年別，時期別分布 (Fig. 2) からシロカワの漁場の年変化，上記分布 (Fig. 2) と漁場の平均釣獲率の時期変化 (Fig. 3) から，漁期と釣獲率の年変化について調べた。

その結果，1957, 1958 年の漁獲高の低下は，漁場，漁期のずれによるものではなく，全漁場，全漁期全般にわたる釣獲率の低下によるものであることが推定された。

文　　献

1) 神奈川県水試: 昭和 31 年度業務報告，p. 222, 1958.
2) ―――――――: 鮪漁業，51, p. 10, 1958.

ベンガル湾に於けるキハダの漁況と分布の経年および周年変化

中　込　　淳

(1959 年 5 月 9 日受理)

ANNUAL AND MONTHLY VARIATIONS OF FISHING CONDITION AND DISTRIBUTION OF YELLOWFIN TUNA IN THE BENGAL BAY.

Jun NAKAGOME*

1) I studied on the monthly and yearly variations of fishing condition and distribution of yellowfin tuna in the Bengal Bay.

2) Rate-of-catch (catch number per 100 hooks) continued to decline from 1955 to 1958, and finally occurred poor catch in the last year.

3) The variation of rate-of-catch has resulted in all sized fish.

4) Rate-of-catch is higher in the first half than in the latter half of the year.

5) In the passed years, sub-areas of low rate-of-catch have extended from southeast toward northwest and sub-areas of high rate-of-catch in 1958 existed only inner part of the Bay.

6) Sub-areas of low rate-of-catch in month of the year have extended from southeast toward northwest of the Bay.

緒　　言

ベンガル湾におけるキハダは，1957 年までは春季になると必ず好漁となつたが[1)]，1958 年は今までにない不漁状態が続いた。

著者は，この不漁が，1958 年のみの特異な現象なのか，また，漁場がどのような変化をしたかについて調べたところ，2，3 の傾向を知ることができたので，ここに報告する。

発表を許可され，御指導，御べんたつ下さつた神奈川県水産試験場永井三夫場長に対し，衷心より謝意を表する。

資料および方法

漁況は釣獲率（釣 100 本当りの漁獲尾数）を用い，先ず，釣獲率の経年変化により漁況の年間の関係を調べ，つぎに，釣獲率の年別周年変化により好漁期を推定し，その好漁期における分布の経年と周年の変化を，年別，または年，月別および緯，経度 5° 区画毎 (Fig. 1) の釣獲率により調べた。

漁況および体長の資料は，マグロ延縄漁船の資料で，三崎入港船については神奈川県水試，焼津，東京

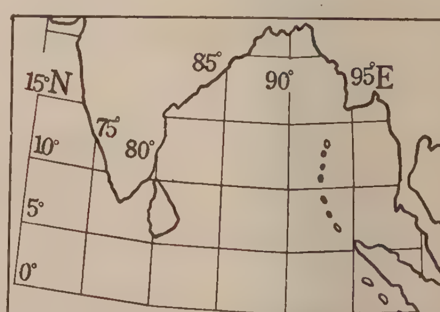


Fig. 1. Investigated area showing subareas surrounded with latitudinal and meriodional lines at every five degrees.

* 神奈川県水産試験場 (Kanagawa Pref. Fish. Station)

Table 1. Number of sample

Year	Number of voyage*
1954	14
1955	60
1956	69
1957	23
1958	62

* The catch of every voyage means one sample.

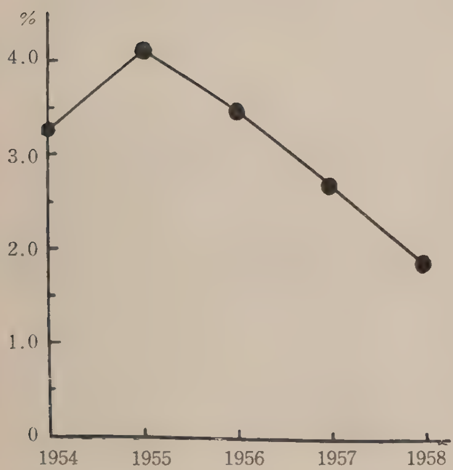


Fig. 2. Yearly variation of rate-of-catch of yellowfin tuna in the Bengal Bay.

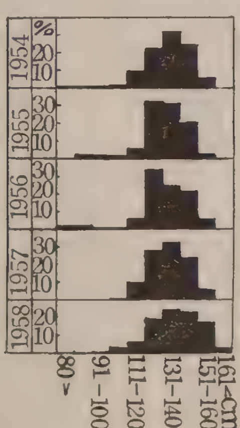


Fig. 3. Annual variation of body length of yellowfin tuna in the Bengal Bay.

入港船については南海区水研が可能な限り全て蒐集，測定し，神奈川県水試が整理したもののうち，ベンガル湾附近 (Fig. 1) において操業したものを抽出し，分析しなおして算出したものである (Table 1)。

結果および考察

ベンガル湾におけるキハダの釣獲率の経年変化は Fig. 2 に示す。すなわち，操業の始められた 1954 年から翌年の 1955 年にかけていつたん上昇した釣獲率は，後，1958 年にかけて年々低下しており，1958 年の不漁が，1958 年にのみ起きた突発的な現象ではないことを示している。そして，この釣獲率の低下は，年別体長組成においてほとんど差がなく (Fig. 3)，したがつてすべての大きさの魚におよんでいることがわかる。

ベンガル湾におけるキハダの釣獲率の年別周年変化は Fig. 4 に示す。この図から明らかなように，どの年も年の前半 (1～7 月) に高率，後半 (8～12 月)に低率で，印度洋の 5°N～10°S 帯の諸海域[2]と同傾向である。

そこで，好漁期2～6月における分布の経年変化をみると Fig. 5 のようになる。すなわち，1955,1956 年は海域全般にわたつて高率であつたが，1957 年以降，低率の海域が南東から次第に拡がり，1958 年には，高率の海域は西北の湾奥のみとなつている。

また，好漁初期を除く 3～6 月の分布の周年変化を年別にみると，経年変化程明らかではないが，ほぼ南東から低率となつている (Fig. 6)。

摘　　　要

1) ベンガル湾におけるキハダの，漁況と分布の経年周年変化について調べた。

2) 1958 年の不漁は，突発的な現象ではなく，1954 年から 1955 年に上昇した後，年々低下してきたものである。

3) しかして，この低下はすべての大きさの魚体におよんでいる。

4) 周年の釣獲率は年の前半が高率，後半が低率である。

5) 1957，1958 年の低率は南東の海域から次第に拡がり，1958 年には，西北の湾奥部のみが高率である。

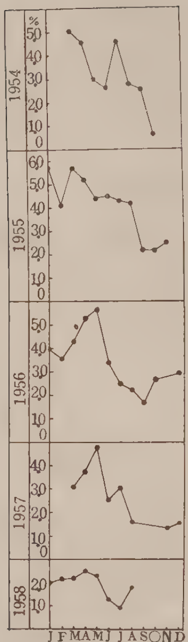
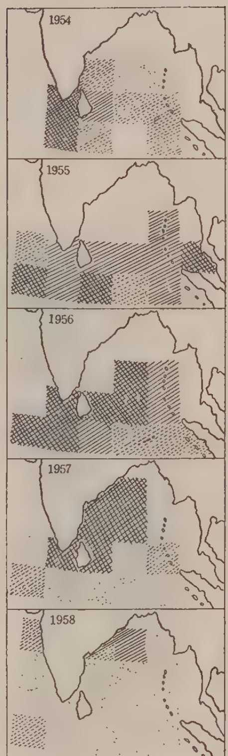


Fig. 4. Monthly variation of rate-of-catch of yellowfin tuna in each year in the Bengal Bay.



6) 年毎の周年変化においても，多少，南東から低率となる傾向がうかがえる。

文　　献

1) 神奈川県水試：昭和 32 年度業務報告，1959.

2) 三村皓哉：鮪漁業，53，1958.

Fig. 5. Distributional variation of yellowfin tuna in the period of good catch in the Bengal Bay.

	rate-of-catch	3.0 >
	〃	3.0～4.0
	〃	4.0～5.0
	〃	5.0 <

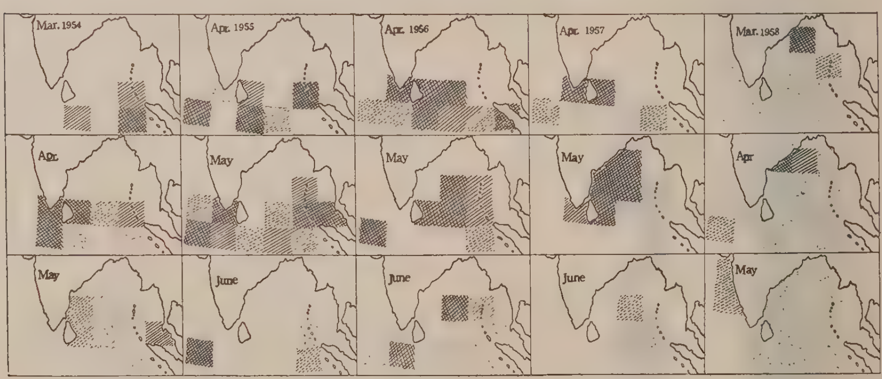


Fig. 6. Variation of distribution of yellowfin tuna for months in each year in the Bengal Bay.

	rate-of-catch	3.0 >
	〃	3.0～4.0
	〃	4.0～5.0
	〃	5.0 <

ベンガル湾におけるメバチの漁況と分布の経年および周年変化

中　込　　淳

(1959 年 5 月 15 日受理)

ANNUAL AND PERIODICAL VARIATIONS OF FISHING CONDITION AND DISTRIBUTION OF BIG-EYED TUNA IN THE BENGAL BAY

Jun Nakagome*

1) I studied on the annual and periodical variations of fishing condition and distribution of big-eyed tuna in the Bengal Bay.

2) Rate-of-catch of big-eyed tuna in the inner and the mouth parts of the Bengal Bay variate samely and the annual difference is larger in the inner part than it in the mouth part of the Bay (Fig. 2).

3) The good catch season in the inner part of the Bay is fewer in frequency but longer in the period than the mouth part. It differs between two terms, 1954–'56, and 1957–'58 continuing up to May in the former and to March in the latter. On the contrary, it occurred more frequently but lasted in shorter period in the mouth part of the Bay, changing the season year after year (Figs. 3 and 4).

4) The sub-areas of good fishing in April, May and June of 1954–'56 extend to wide sphere as well as in February, March and April of 1957–'58, in the inner part of the Bay. On the end of good fishing, it became poor catch extending from east to west, in 1954–'56 and from the coast of the continent, in 1957–'58, in the inner part of the Bay. The distribution of the fish in the mouth part of the Bay showed great differences by year and by mouth.

緒　　言

著者は，先にベンガル湾におけるキハダが 1958 年に著しく不漁になつたことを知り，その傾向について調べ，報告した[1]。その後，メバチについても，漁況の低下等キハダと同様の傾向がみられるかどうか調べたところ，キハダと異なつた 2, 3 の傾向を知りえたので，ここに報告する。

発表を許され，御指導，御べんたつ下さつた神奈川県水産試験場永井三夫場長に対し，衷心より謝意を表する。

資料および方法

漁況は釣獲率（鈎 100 本当りの漁獲尾数）で表わし，資料は，三崎入港船については神奈川県水試，東京，焼津入港船については南海区水研が蒐集し，神奈川県水試が整理したもののうち，Fig. 1 の海区のもの（Table 1）を抽出し，分析しなおして算出した。

Table 1. Investigated voyage number.

Year	Number
1954	14
1955	35
1956	69
1957	23
1958	62

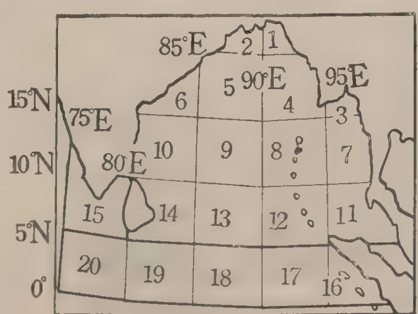


Fig. 1. Investigated sub-areas with indexes.

漁況の経年変化，周年

* 神奈川県水産試験場 (Kanagawa Pref. Fish. Station)

変化を表わすのに用いた釣獲率は，各年，月，また Fig. 1 の小海区毎に算出した釣獲率を，ベンガル湾内部（5°N 以北，80°E 以東の海区，以下内部海区と略す）の変化を表わす場合には Fig. 1 における Nos. 1〜14 小海区について平均し，ベンガル湾口部 0〜5°N，75°E 以東の海区，以下口部海区と略す）の変化を表わす場合には Fig. 1 における No. 16〜20 小海区について平均し，海区全体の変化を表わす場合には，Nos. 1〜14，16〜20 小海区について平均して用いた。なお，No. 15 は，セイロンを境に Nos. 1〜14 と，5°N を境に Nos. 16〜20 と変化が異なるので除いた。

分布の周年変化を表わす釣獲率は，各年，月，また Fig. 1 の小海区毎に算出した釣獲率を，口部海区についてはそのまま，内部海区については 1954〜1956 年と 1957，1958 年にまとめて平均して用いた。

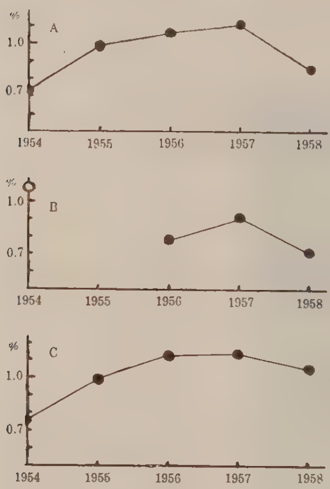


Fig. 2. Annual variation of rate-of-catch of big-eyed tuna in the Bengal Bay.
A; in both parts
B; in the inner part
C; in the mouth part

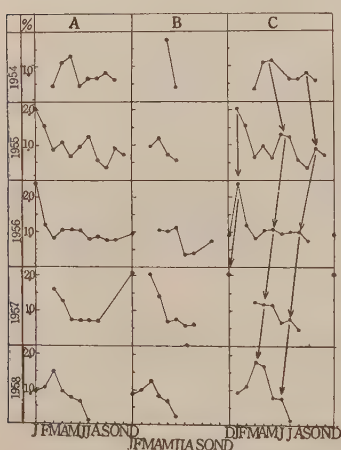


Fig. 3. Periodical variations of rate-of-catch of big-eyed tuna in the Bengal Bay.
A; in both parts
B; in the inner part
C; in the mouth part

結果および考察

ベンガル湾周辺（Fig. 1 の海区）におけるメバチの釣獲率の経年変化は Fig. 2，A に示す。

すなわち 1954 年より 1957 年にかけて上昇してきた釣獲率は，1958 年にかけて著しく低下した。

この釣獲率の経年変化を内部海区と口部海区に分離すると Fig. 2，B，C になる。すなわち，内部海区は，1954 年と 1955 年の釣獲率は好漁期のみの平均値なので高率となつているが，1956 年から 1957 年にかけて著しく上昇した後，1958 年にかけて著しく低下し (Fig. 2. B)，口部海区は，1954 年から 1957 年にかけてゆるやかに上昇した後，1958 年にかけてわずかに低下している (Fig. 2. C)。したがつて，内部海区と口部海区はほぼ同様の変化を呈するが，口部海区より内部海区の方が，年間の差が大きいと考えられる。

つぎに，ベンガル湾周辺の釣獲率の周年変化をみると，Fig. 3. A に示したように，年によつて著しい差がみられる。そこで，年変化と同様に内部海区と口部海区に分離すると，Fig. 3. B，C のように，かなりの差がみられる。

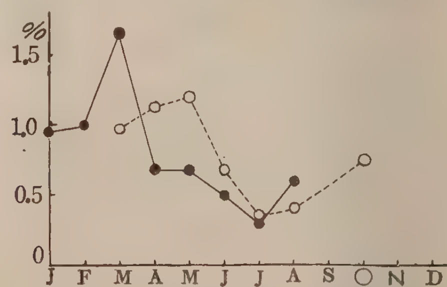


Fig. 4. Periodical variations of rate-of-catch of big-eyed tuna in 1954-1956 and those in 1957 and 1958, in the inner part of the Bengal Bay.
1954–1956
1957–1958

(A)



(B)

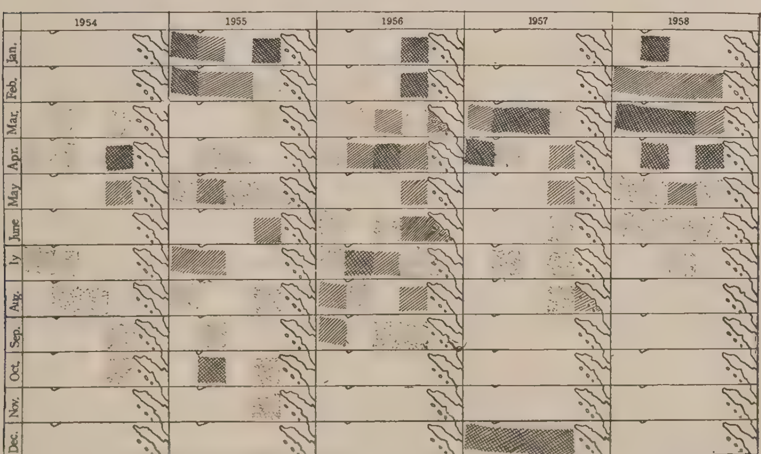


Fig. 5. Periodical variations of distribution of big-eyed tuna in 1954–1956 and in 1957 and 1958 in the inner part of the Bengal Bay, and that of each year in the mouth part of the Bay.

A; in the inner part

B; in the mouth part



rate-of-catch 1.0 >

〃 1.0～1.5

〃 1.5 <

先ず，内部海区は，1954 年から 1956 年までがほぼ同変化，1957 年と 1958 年がほぼ同変化である (Fig. 3. B)。そこで，1954〜1956 年を一緒に，1957，1958 年を一緒にして変化をみると，Fig. 4 のようになり，1954〜1956 年は好漁期が 5 月まで続くのに対し，1957，1958 年は 3 月までで好漁期は終わり，4 月には著しく低下している。ただし，好漁期初期の資料がないので，好漁期が時期的にずれているのか，好漁期の長さが異なつているのかは明らかでない。

口部海区は，年が変わる毎に，1 年間に 2，3 回みられる好漁期の時期的ずれが生じ (Fig. 3. C の矢印)，したがつて年毎に著しい差がみられる (Fig. 3. C)。

すなわち，内部海区は，好漁期の回数が少くて各好漁期の期間が長く，口部海区は回数が多くて期間が短かい。また，内部海区は，1954〜1956 年と 1957，1958 とで好漁期の時期が異なり，口部海区は好漁期が年毎にずれている (Figs. 3, 4)。

最後に，ベンガル湾周辺の分布の周年変化を，内部海区については 1954 年から 1956 年まで，1957，1958 年をそれぞれ一諸にして示し，口部海区については各年毎に示すと，Fig. 5 のようになる。

先ず，内部海区についてみると，1954〜1956 年は 4，5，6 月に好漁海域が広く，1957，1958 年は 2，3，4 月に好漁海域が広くなつている (Fig. 5. A)。また，好漁期末期において，1954〜1956 年は東側から不漁海域が拡がつたのに対し (Fig. 5. A の 5，6 月)，1957，1958 年は周囲の大陸沿海から拡がつている (Fig. 5. A の 4，5 月)。

つぎに，口部海区についてみると，1955 年に 1 月で 1957 年に 12 月に移つた好漁期 (Fig. 3. C) と，1954 年に 4，5 月で 1955 年に 6，7 月，1958 年に 3，4 月に移つた好漁期 (Fig. 3. C) は，概して，海域全般的に好漁で，1954 年に 9 月，1955 年に 10 月，1958 年に 6 月に移つた好漁期 (Fig. 3. C) は，概して西よりに好漁であるが，年，月により著しい差がみられる (Fig. 5. B)。

摘　　要

1) ベンガル湾周辺におけるメバチの漁況と分布の経年，周年変化について調べた。

2) 釣獲率の経年変化は，ベンガル湾内部と同口部とほぼ同様の変化を呈するが，口部海区より内部海区の方が年間の差が大きい (Fig. 2)。

3) 内部海区は，好漁期の回数が少なくて各好漁期の期間が長く，口部海区は回数が多くて期間が短かい。また，内部海区は 1954〜1956 年と 1957，1958 年とで好漁期の時期が異なり，外部海区は好漁期が年毎にずれている (Figs. 3, 4)。

4) 分布の周年変化において，内部海区では，1954〜1956 年には 4，5，6 月，1957，1958 年には 2，3，4 月に好漁海域が広く，また，好漁期末期において，1954〜1956 年には東側から不漁となり，1957，1958 年には周囲の大陸沿海から不漁となつている。口部海区では年，月により著しい差がみられる (Fig. 5)。

文　　献

1) 中込淳：日水誌，25(3)，1959.

柔魚内臓の生化学的研究—II.
肝臓エキスの窒素化合物について

高 橋 喬

(1959 年 3 月 28 日受理)

BIOCHEMICAL STUDIES ON VISCERA OF CUTTLE-FISH *OMMASTREPHES SLOANI PACIFICUS*—II.
ON THE NITROGENOUS COMPOUNDS IN HOT WATER EXTRACT OF LIVER

Takashi TAKAHASHI*

In the previous paper it was reported that liver is the largest organ in cuttle-fish, holding 60~70% of the viscera, and contains crude protein as much as its meat. It was reported by KITABAYASHI[2] that about half amount of nitrogen contained in the liver was extracted by hot water. It has often been observed that more than 50% of nitrogen contained in cuttle-fish viscera is dissolved in hot water[3].

In order to clear up physiological function and way of utilization of these organs, it is important to be determined the chemical constituents of these organs. Accordingly, in this paper the author investigated the distribution of nitrogenous compounds in hot water extract of the liver (Tables 1 and 2), and moreover detected 13 kinds of free amino acids in the extract, such as cystine, serine, glutamic acid, tyrosine, lysine, histidine, arginine, proline, leucine, valine, aspartic acid, glycine, alanine.

著者はさきに，スルメイカ内臓の組成および部分比の季節的変化について研究を行い，肝臓が内臓の大半を占め，肝臓の窒素含量は肉質のそれよりやや少いが大差ないことを報告した[1]。スルメイカ肝臓の含窒素物の組成については北林[2]の研究があり，全窒素の約半分が熱水可溶性であることを報告している。また著者[3]もスルメイカ内臓の自己消化による液化に際して，内臓全窒素の 50% 以上が自己消化開始時にすでに熱水可溶であることを屢々経験している。内臓の生理的機能を解明するためにも，また利用の点からも，各器官の構成々分を明らかにすることが極めて重要なことで，本研究においては肝臓エキスの主成分をなす窒素化合物について実験を行い，以下の結果をえたので報告する。

実験および結果

試　料　紀州方面で漁獲された可及的新鮮なスルメイカを使用した。試料エキスの調製はつぎのようにして行つた。肝臓を乳鉢にて良くすりつぶし，その 25 g を 4 倍量の水とともに 15 分間煮沸し，後これを 250 cc のメスフラスコに移し水を以つて定量となし，直ちに遠心分離（3000 R. P. M., 15 分間）した。遠心分離されたものは三層に分れる。上層に油および油と微少固形物のエマルジョンが浮上し，その下に透明液，最下層に固形物が沈澱する。この中間の透明液を熱水抽出液として分析に供した。

実験 1　漁期の異る 4 種の試料についてエキス（熱水抽出液）の含窒素物の概略の組成を検討した。参考までに冷水可溶性窒素をも測定したが，これは上記試料 25 g を 4 倍量の水で 15 分間攪拌した後 250 cc のメスフラスコに移し，前記同様に処理した分離液を分析に供した。分離液は熱水抽出液とは異り完全に透

* 三重県立大学水産学部 (Fac. Fish. Pref. Univ. Mie, Japan).

明ではなかつた。定量法はつぎの通りである。

純蛋白態窒素: スツッツァー法により測定。

アミノ態窒素: 熱水抽出液をそのままヴァンスライク法により測定。

アンモニヤ窒素: 熱水抽出液を使用し減圧蒸溜法[4]により測定。

結果は Table 1 に示すようである。すなわち肝臓全窒素中約 52〜54% が熱水可溶性であり，アミノ態窒素は全窒素の約 25〜30%，熱水可溶性窒素のほぼ半量を占めている。冷水可溶性窒素は熱水可溶性窒素より約 10% 多く，全窒素の 61〜63% であつた。

Table 1. Nitrogen distribution of liver of cuttle-fish.

Sample* No.	% of fresh liver				% of Total-N			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Total-N	2.807	3.013	2.730	2.800	100	100	100	100
Water soluble-N	1.701	1.889	1.722	1.741	60.6	62.7	63.1	62.2
Hot water soluble-N	1.468	1.630	1.504	1.506	52.3	54.1	55.1	53.8
Hot water soluble-prot.-N	0.440	0.508	0.456	0.415	15.6	16.8	16.7	14.8
Amino-N	0.691	0.908	0.806	0.830	24.6	30.1	29.5	29.7
NH_3-N	0.060	0.081	0.054	0.067	2.1	2.7	2.0	2.4

* These samples were caught on March (1), July (2), September (3), and November (4) 1958, off Owase, Mie Pref.

実験 2 昭和33年9月漁獲されたものについて熱水抽出液の含窒素成分の分別定量を行つた。高級含窒素物については H. WASTENEYS 等の方法[5]によりサブペプトンまでの分別定量を行い，これ以下の低級窒素化合物については熱水抽出液の一部をヴアンスライク法にしたがつて先づ揮発性塩基を測定し，後燐タングステン酸処理により沈澱部と沪液部とに分け，各々についてアミノ態窒素を測定しヂアミノ窒素，モノアミノ窒素とした。ヂアミノ窒素は 15 分間反応を行わせた時の数値を採用した。これらの方法は何れも蛋白質の加水分解物について行われた方法であり，エキスの含窒素物の分別定量法としてあるいは妥当ではないかも知れないが，一応原法そのままの数値を Table 2 に示した。

Table 2. Fractional analysis of nitogen in hot water extract of cuttle-fish liver.

Nitrogen form	% of fresh liver	% of Hot water sol.-N
Total-N	2.730	
Hot water soluble-N	1.504	100.00
Protein & Metaprotein-N	0.064	4.50
Proteose-N	0.162	10.81
Pepton-N	0.141	9.37
Sub-pepton-N	0.259	17.25
Mono amino NH_2-N	0.606	40.34
Di amino NH_2-N	0.058	3.87
Volatile-basic-N	0.052	3.46
Phosphotungstic acid p.p.t.-N	0.635	42.21
Phosphotungstic acid filt.-N	0.813	54.05

実験 3 熱水抽出液の遊離アミノ酸

実験2から知られるようにアミノ態窒素は熱水可溶性窒素の 44% 強を占め，その大部分はモノアミノ態窒素であるが，如何なる種類のアミノ酸が存在するか定性試験を行つた。分析はペーパークロマト法により行つた。沪紙は東洋沪紙 No. 50 (40×40 cm.)，二次元上昇法，溶媒はフェノール・水 (7：3) および n-ブタノール・酷酸・水 (4：1：2)，呈色剤はニンヒドリンのブタノール溶液を用いた。試料は熱水抽出液，熱水抽出液のトリクロール酷酸処理沪液，および実験2で行つたサブペプトン定量時の残液を適当濃度まで濃縮して使用した。

定性試験の結果肝臓エキス中に遊離の状態に存在するアミノ酸として，Cystine, Serine, Glutamic acid, Aspartic acid, Glycine, Alanine, Tyrosine, Lysine, Histidine, Arginine, Proline, Leucine, Valine, の 13 種類の存在を確認した。

考　　察

スルメイカ肝臓の熱水可溶性窒素は前述したように全窒素の約 52〜54% を占めるが，その大部分は非蛋白態の窒素であり蛋白態の窒素は少い。Table 1 ではスツッツアー法により測定した純蛋白態窒素がエキス（熱水抽出液）全窒素の 26% を示しているのに対し，Table 2 では蛋白およびメタプロテイン態窒素の合計が 4.5%となつておりこの点に差異が見られる。柏田等[6] がカツオ幽門垂エキスの窒素化合物に関する研究の際にも，これと同様なことを指摘されている。この原因としては蛋白沈澱剤の相違も考えられるが，後程詳細に検討したい。非蛋白態窒素のうち最も大きな割合を示すものはアミノ態窒素でその 90% 近くがモノアミノ態のものとなつている。そしてエキス中の遊離アミノ酸としては前記の 13 種類のものが見出された。またその他非蛋白態の主なものとしては，プロテオーズ，ペプトン，サブペプトン態のものであつて，エキス全窒素に対して各々約 10%，10%，17% を占めている。蛋白質より一層低分子の比較的加水分解を受け易いこれら形態の窒素の合計はアミノ態窒素とほぼ同じ位で，このことはイカ内臓を自己消化法により液化させた場合，比較的短時間にアミノ態窒素を増加させる主因をなすものと推定される。

本研究に当り御懇切なる御指導を賜つた本学立野新光教授に深謝致す次第であります。

文　　献

1) 川田寛・高橋喬： 本誌，**20**，888 (1955).
2) 北林邦次・中村邦典： 北海水産研，**12**，49 (1955).
3) 川田寛・高橋喬： 未発表
4) 実験農芸化学，上巻，朝倉書店，東京 (1954) pp. 108.
5) H. Wasteneys, H. Borsook： J. Biol. Chem., **61**, 1 (1924).
6) 柏田研一・柿本大壱・山崎利雄： 本誌，**19**，15 (1953).

天然ビタミン油よりビタミンA濃縮物を経済的に製造する方法の研究—X.

弱化酸性白土を使用するビタミンA濃縮物の精製法

東　秀雄・金子徳五郎・杉井麒三郎
山川健重・井関重夫

(1959年4月14日受理)

STUDIES ON THE ECONOMICAL MANUFACTURE OF VITAMIN A CONCENTRATE FROM FISH LIVER OIL—X. ADSORPTION BY WEAKENED ACID CLAY

Hideo Higashi, Tokugoro Kaneko, Kisaburo Sugii,
Takeshige Yamakawa and Shigeo Iseki*

In usual methods for refining a vitamin A concentrate (hereinafter referred to as the sample), vitamin A is more or less liable to be destroyed as it is subjected first to adsorption to separate impurities and then to elution before obtaining a higher concentrate.

In search of technological improvement it occurred to the authors that acid clay, when weakened appropriately, could be economically used as an adsorbent of impurities so as to avert the destruction of vitamin A.

In the experiments a definite amount of aquatic solution of ammonia, urea or NaOH was added to acid clay. The mixture was dried, pulverised, and then heated at a certain temperature. The acid clay thus weakened was used as the material adsorbing impurities from the sample.

Two methods were employed in adsorbing impurities of the sample into the weakened acid clay; one was a normal column chromatography and the other was shaking or stirring.

The results of the experiments were as follows:

1) Under certain condition, it had been possible to concentrate vitamin A by the use of acid clay weakened with ammonia or urea (Tables 1 and 2). Nevertheless, further experiments proved that a constant activity could not be secured in these adsorbents.

2) When weakened with NaOH, however, acid clay showed a constant activity in removing a part of the impurities from the sample together with fishness and dark color. The best result was obtained when the weakened acid clay containing 3.5% NaOH was heated at 150°C and used at the rate of 20 parts to 1 part of the sample. Along with this adsorbent the shaking or stirring method is recommended to be most economical and practical for industrial purposes (Tables 3~8).

3) With view to examining the refining efficiency, the compositions of the sample before and after carrying out the adsorption were determined on the basis of alumina chromatographic fractionation, and the results were compared as in Fig. 1 and Table 9. The weakened acid clay was capable of adsorbing entirely fraction III consisting only of the impurities. In fraction II which consisted of the impurities and vitamin A, both equally adsorbable to alumina, a greater part of the former was adsorbed by the weakened acid clay.

4) *Kanuma* earth (a kind of clay used in gardening) weakened by KOH was also as effective as the NaOH weakened acid clay in adsorbing impurities (Table 10).

* 東海区水産研究所 (Tokai Reg. Fish. Res. Lab. Chūō-ku, Tokyo, Japan).

緒　　言

前報までに述べた方法[1),2)]で製造した不鹸化物（以下A濃縮物と称する）にはなおビタミンA（以下単にAという）以外の不鹸化物（以下不純物と称する）が相当含まれている。

著者らはこれらのA濃縮物より不純物を吸着法により除去しようと試みた。

吸着法によりAを濃縮するには吸着剤にAを吸着せしめて，吸着しない不純物を除いて後，Aを溶出して濃縮する方法[3),4),5)]が行われている。この方法では操作中にAの分解が起り易く，また使用溶剤が多元的となるため経済的濃縮法としては採用し難い。

Aを一旦吸着せしめて溶出する際のAの損失は吸着剤とAの反応による分解，操作中における酸化などが考えられるが，今までAの損失を少からしめるためにとられた主な方法は不活性ガス中における操作と吸着剤の適当なる弱活性化（以下単に弱化という）である。例えばアルミナ[6)]，Floridin earth[7)] など[8)]を弱化してAの吸着分離に応用している。しかしこれら弱化した吸着剤を用いる方法も上述のように一旦Aを吸着させるという考えに基いたものである。

弱化した吸着剤を用い，単一溶剤でAを吸着せしめることなく不純物のみを吸着除去しAを濃縮，精製することは従来行われていない。安価な吸着剤を用い，単一溶剤でAを濃縮，精製出来れば経済的A濃縮法の一工程として実用化することができる。使用すべき吸着剤としては，本邦に多産する酸性白土を弱化したものを主に吟味した。この結果適当な条件で弱化した酸性白土を適量使用することによりA濃縮物のA濃度の向上および，におい，味，色調の改善が経済的に行いうる確信がえられたのでここに報告する。

実　験　の　部

（I） 試　　料

試料としたA濃縮物は，ビタミン油を分子蒸溜後，メタノール性ソーダで鹸化し，ベンゼンにより不鹸化物を抽出し，不鹸化物よりステロールおよび尿素附加物を除いたものおよびこのA濃縮物をさらにメタノールで処理[9)]して不溶物を除いたものである。

（II） 実験方法

（1） 吸着剤の弱化方法

従来，吸着剤を弱化する方法としてはアルミナに水を加える方法[6)]，Floridin earth にアンモニアを作用せしめる方法[7)]などが知られている。著者らはベンゼン溶液中でAを吸着させぬ程度に弱化した吸着剤を酸性白土などを用いて調製した。この実験に用いた弱化吸着剤の製法を以下に述べる。

i） アンモニアによる弱化方法

60～120 mesh に粒を揃えた酸性白土をガラス管につめ，乾燥したアンモニアガスを 10 分間通じるか，あるいは一定量のアンモニア水に漬けてから乾燥する。

弱化酸性白土（以下弱化白土という）を使用前に一定温度で 15 分間加熱する。

ii） 尿素による弱化方法

酸性白土に一定量の尿素の水溶液を加えて混和し，乾燥後 60～120 mesh に粒を揃える。この乾燥粒を一定温度で 15 分間加熱して使用する。その場合加熱温度が約 140°C になると急激にアンモニアが発生する。

iii） 苛性ソーダによる弱化方法

酸性白土に一定量の苛性ソーダ水溶液を加えてよく混和し，乾燥後 60～120 mesh の粒を揃えるかあるいは 120 mesh 以下に粉砕し一定温度で 15 分間加熱する。

iv） 苛性カリによる弱化方法

酸性白土に対し 10% の苛性カリの水溶液を適量加えて混和，乾燥後 25～60 mesh に粒を揃え 150～160°C で 10 分間加熱する。

（2） 吸 着 方 法

吸着方法としては column を用いる chromatography（以下単にクロマト法という）と吸着剤を試料溶液中に分散せしめ，振盪あるいは攪拌後吸着剤と溶液とを分離する方法（以下単に分散吸着法という）の2通りを試みた。

i） クロマト法

予め試料約 0.2g（精秤）を適量のベンゼンに溶解させて置き，別にガラス綿を詰めた column の底部を指頭にて押え，column 内にベンゼン，ついで粒を揃えた吸着剤を所定量入れて column を受器に接続し，column 内の溶剤が落下して吸着剤の上部に僅かに残つているとき，試料のベンゼン溶液を column 内に注入し，所定量のベンゼンを用いて洗滌する。洗滌終了後，受器内の溶剤を溜去すれば目的とする濃縮物を得る。

ii） 分散吸着法

この方法は吸着剤を濃縮物のベンゼン溶液中に投入して，攪拌または振盪後，沪過，洗滌し，沪液，洗液を合してベンゼンを溜去し，目的とする濃縮物を得る。

これらの吸着実験に用いたベンゼンは脱水，精製したものである。酸性白土は水沢化学株式会社製工業用を，鹿沼土は園芸用の市販品を用いた。

（III） **実験結果および考察**

（1） アンモニア弱化白土および尿素弱化白土による吸着試験

シュモクザメ肝油より製したA濃縮物を試料とし，アンモニア弱化白土によるクロマト法を行つた（Table 1)。Table 1 に見るように吸着剤の加熱温度を比較すると 140°C の場合が収量，濃縮比共に良好である。

吸着操作の際，アンモニア弱化白土はA濃縮物のベンゼン溶液と接触して茶褐色を呈する。

調製日の異なる弱化白土の吸着試験を同一試料，同一条件で行つたが，A の濃縮比，収量に 20〜30% の差があり，再現性がない。この結果から見るとアンモニアによる弱化は著者らの実験条件では一定に行なわれ難いようである。

尿素弱化白土はアンモニア弱化白土に較べて弱化程度を一定にしやすいと考え，イシナギ肝油より製したA濃縮物を試料とし，尿素弱化白土によるクロマト法を行つた。その結果を Table 2 に示す。

Table 1. アンモニア弱化酸性白土使用前の加熱温度とA濃縮比，A収量との関係
Comparison of heating temperatures of ammonia weakened acid clay with ratio of concentration and yield of vitamin A.

使用前の加熱温度 Temp. (°C)	非吸着物 Unadsorbed matter			
	重量 Wt. (%)	A単位(万) Vitamin A potency × 10^4	濃縮比 Ratio of conc.	A収量 Vitamin A yield (%)
100	88.7	165.4	1.07	94.5
140	83.1	179.9	1.16	96.3
180	75.3	176.3	1.14	86.2

吸着剤 アンモニア弱化酸性白土 2g
Adsorbent: Acid clay weakened by ammonia 2g
試料 イシナギ肝油濃縮物
Sample : Liver oil concentrates of Black sea bass ca. 0.2 g. Vitamin A unit, 1,550,000 u.s.p.u.
溶剤
Solvent : Benzene 20 cc

Table 2. 尿素弱化酸性白土使用前の加熱温度とA濃縮比，A収量との関係
Comparison of heating temperature of urea-weakened acid clay with ratio of concentration and yield of vitamin A.

使用前の加熱温度 Temp. (°C)	非吸着物 Unadsorbed matter			
	重量 Wt. (%)	A単位(万) Vitamin A potency × 10^4	濃縮比 Ratio of conc.	A収量 Vitamin A yield (%)
100	76.8	189.0	1.04	80.3
120	77.5	190.0	1.05	81.4
140	83.8	206.0	1.14	95.4
160	76.5	206.0	1.12	87.1

吸着剤 尿素弱化酸性白土 2g
Adsorbent: Acid clay weakened by urea 2g
試料 イシナギ肝油濃縮物約 0.2g
Sample : Liver oil concentrates of Black sea bass ca. 0.2g. Vitamin A unit, 1,810,000 u.s.p.u.
溶剤
Solvent : Benzene 20cc

吸着操作の際，アンモニア弱化白土と同様に尿素弱化白土もA濃縮物のベンゼン溶液と接すると茶褐色を呈する。

表に見るように吸着剤の加熱温度は 140°C がよい結果を示すが，アンモニア弱化白土と同様弱化が一定に行われない。上記のようにアンモニア弱化白土，尿素弱化白土ともにその活性を一定としにくいので実用化が困難と考えた。(本実験におけるA単位はすべて $E^{1\%}_{1cm}$ 325 mμ に 1900 を乗じたもので，補正はしていない。)

Table 3. 酸性白土の弱化に要する NaOH 量及び試料に対する弱化白土使用量の吟味
The volume of NaOH, and weakened acid clay related with concentration and yield of vitamin A.

弱化白土中のNaOH量 NaOH in weakened acid clay (%)	試料に対する弱化白土使用量 Volume of weakened acid clay to sample	非吸着物 Unadsorbed matter 重量 Wt. (%)	A単位(万) Vitamin A potency ×10⁴	濃縮比 Ratio of conc.	A 収量 Vitamin A yield (%)
3	×15	76.7	211.2	1.16	89.3
	×10	84.7	207.7	1.14	96.9
	× 6	86.6	201.8	1.11	96.4
	× 4	88.4	200.0	1.10	97.4
5	×15	82.7	206.8	1.14	94.3
	×10	85.1	206.7	1.12	95.4
	× 6	90.7	195.0	1.08	97.5
	× 4	90.2	195.0	1.08	97.1
7	×15	84.8	199.2	1.10	93.1
	×10	90.7	188.9	1.04	94.3
	× 6	93.6	190.1	1.05	98.1
	× 4	94.5	182.1	1.00	95.0

試　料　アブラガレイ濃縮物約 0.2 g
Sample: Liver oil concentrates of Arrow toothed flatfish ca. 0.2 g. Vitamin A unit, 1,815,000 u.s.p.u.
溶　剤
Solvent: Benzene 20 cc.

Table 4. 酸性白土の弱化に要する NaOH 量の吟味
Various volumes of NaOH in weakened acid clay.

試料(A単位) Sample used. (u.s.p.u.)×10⁴	酸性白土中のNaOH NaOH in acid clay (%)	非吸着物 Unadsorbed matter 重量 Wt. (%)	A単位(万) Vitamin A potency ×10⁴	濃縮比 Ratio of conc.	A 収量 Vitamin A yield (%)
大ザメ Mixed shark (102.8)	3	67.7	124.9	1.22	82.2
	3.5	75.0	129.5	1.26	94.6
	4	72.5	129.1	1.26	91.2
	5	82.5	122.5	1.23	98.5
スケソウダラ Alaska pollack (102.0)	3	68.5	136.8	1.34	91.6
	3.5	73.6	135.8	1.34	98.1
	4	72.7	131.9	1.29	94.0
	5	79.8	126.3	1.24	99.0

試　料　試料はいづれも肝油濃縮物
Sample: Liver oil concentrates ca. 0.2 g.
溶　剤
Solvent: Benzene 20 cc.

（2）　苛性ソーダ弱化白土の吸着試験

苛性ソーダ弱化白土による吸着の適当条件を求めるためクロマト法により，吸着試験を行つた。その結果を Table 3, 4 及び5に示した。

アブラガレイ肝油より製したA濃縮物について酸性白土の弱化に要する苛性ソーダの量，弱化白土の試料に対する使用量を吟味した結果 (Table 3) は，弱化白土の使用量は試料の 10〜15 倍が適当であることがわかつた。苛性ソーダ使用量は3％の場合がよかつた。更に大ザメ及びスケソー肝油より得たA濃縮物について弱化に使用する苛性ソーダの量を吟味した結果 (Table 4)，3.5% が適当であつた。各種のA濃縮物のベンゼン溶液を苛性ソーダ弱化白土に接触させる場合，弱化程度により異なつた呈色をする。弱化程度が適当な時は，クロマト管の上層ははじめ淡緑色の帯状となり，この緑色帯はベンゼン溶液とともに下降し，徐々に褐色に変り，遂に全体が褐色となる。実さい，弱化の程度が適当であつたか否かは可検液がカラムの先端にふれた瞬間，分る。すなわち，弱化が不足であれば濃い青色を呈し，逆に過剰であれば褐色または呈色しない。すなわちこの場合に見られる呈色は弱化白土の活性の適否判別の指標となる。以上の実験結果から，酸性白土の弱化に使用する苛性ソーダの量は 3.5% が適当と思われたので以下の実験では 3.5%のアルカリで弱化した白土を使用した。

苛性ソーダ弱化白土を製造後，乾燥及び活性の調整のために加熱する必要があるのでスケソウ肝油および

大ザメ肝油より得たA濃縮物について苛性ソーダ弱化白土を使用する前の加熱温度を吟味した (Table 5)。この表に見るように加熱温度は 150°C が適当なようである。

適当な条件で苛性ソーダ弱化白土を用いて不純物を除去することによりA濃縮物を収量よく濃縮，精製することができるが，クロマト法は工業的操作としては不適当である。そこで弱化白土を製造する際，60～120 mesh に粒を揃えず 120 mesh 以下の粉末とし，分散吸着法を行つた。この方法とクロマト法を3種のA濃縮物につき比較した結果 (Table 6) この2法による濃縮効果はほぼ同様であつた。

分散吸着法により大ザメおよびスケソウ肝油よりのA濃縮物を精製した結果 (Table 7) これらの試料では弱化白土を試料の 20 倍用いるのが適当と思われた。

これらの実験結果から，適当の条件において苛性ソーダ弱化白土でA濃縮物を吸着処理するとAを収量よく濃縮することができる。苛性ソーダ弱化白土は上記のアンモニア弱化白土，尿素弱化白土のように弱化条件を定めることが困難でなく再現性がある。しかも苛性ソーダ弱化白土は安価で，使用溶剤はベンゼンだ

Table 5. 3.5% NaOH 弱化白土，使用前の加熱温度
Various temperatures heating acid clay weakened with 3.5% NaOH

試料 A単位（万） Sample used (u.s.p.u.)×10⁴	加熱温度 Temp. (°C)	非吸着物 Unadsorbed matter 重量 Wt. (%)	A単位 Vitamin A potency×10⁴	濃縮比 Ratio of conc.	A収量 Vitamin A yield (%)
スケソウダラ Alaska pollack (98.5)	120	74.9	112.6	1.14	85.6
	150	75.2	120.8	1.23	92.5
	180	72.4	115.9	1.17	85.1
大ザメ Mixed shark (113.8)	120	75.2	136.1	1.20	90.2
	150	75.7	142.8	1.25	94.9
	180	74.8	138.1	1.22	91.0

吸着剤 Adsorbent: 3.5% NaOH 弱化白土 2g. Acid clay weakend with 3.5% NaOH 2g.
試料 Sample: いづれも肝油の濃縮物約 0.2g Liver oil concentrates ca. 0.2g.
溶剤 Solvent: Benzene 20 cc.

Table 6. クロマト法と分散吸着法との比較
Comparison of refining efficiency between chromatography and shaking method.

試料 A単位（万） Sample used (u.s.p.u.)×10⁴	方法 Method	非吸着物 Unadsorbed matter 重量 Wt. (%)	A単位（万） Vitamin A potency×10⁴	濃縮比 Ratio of conc.	A収量 Vitamin A yield (%)
大ザメ Mixed shark (113.8)	(a)	75.6	142.8	1.25	94.9
	(b)	76.6	141.6	1.24	95.3
スケソウダラ Alaska pollack (102.1)	(a)	78.3	120.8	1.18	92.5
	(b)	80.4	119.0	1.17	93.7
クジラ Whale (155.1)	(a)	76.0	190.0	1.23	93.0
	(b)	78.6	188.4	1.21	94.9

吸着剤 Adsorbent: 3.5% NaOH 弱化白土 5g. Acid clay weakened with 3.5% with NaOH 5g.
試料 Sample: いづれも肝油の濃縮物約 0.5g. Liver oil concentrates ca. 0.5g.
溶剤 Solvent: Benzene 50 cc.
方法 Method: (a) クロマト法 Chromatography (b) 分散吸着法 Shaking method

Table 7. 分散吸着法による 3.5% NaOH 弱化白土の使用量の吟味
Various volumes of acid clay weakened with 3.5% NaOH in shaking method.

試料 A単位（万） Sample used (u.s.p.u.)×10⁴	試料に対する弱化白土の使用量 Volume of weakened acid clay to sample	非吸着物 Unadsorbed matter 重量 Wt. (%)	A単位（万） Vitamin A potency×10⁴	濃縮比 Ratio of conc.	A収量 Vitamin A yield (%)
大ザメ Mixed shark (119.0)	×10	81.8	144.7	1.22	99.3
	×20	71.5	163.7	1.38	97.6
	×30	59.0	187.1	1.57	92.7
スケソウダラ Alaska pollack (120.0)	×10	78.0	152.0	1.27	98.7
	×20	72.5	157.3	1.31	94.8
	×30	63.4	167.0	1.39	87.6

吸着剤 Adsorbent: 3.5% NaOH 弱化白土 5g. Acid clay weakened with 3.5% NaOH 5g.
試料 Sample: 試料はいづれも肝油の濃縮物約 0.5g. Liver oil concentrates ca. 0.5g.
溶剤 Solvent: Benzene 50 cc.

けであるから，分散吸着法による精製は経済的A濃縮法の一つとして採用しうると考えられる。

苛性ソーダ弱化白土により精製されたA濃縮物は著しく脱色され，天然Aの最大欠点とされる不快な臭味

Table 8. 各種肝油よりのA濃縮物の 3.5% NaOH 弱化白土による吸着処理結果
Various liver oil concentrates refined by the 3.5% NaOH-acid clay adsorption.

試料 Sample			非吸着物 Unadsorbed matter			
魚種 Species		A単位(万) Vitamin A potency (u.s.p.u.) × 10^4	重量 Wt. (%)	A単位 (× 10^4) Vitamin A potency	濃縮比 Ratio of conc.	A収量 (%) Vitamin A yield
ナガスクジラ Fin whale	(a)	162.1	77.4	194.8	1.20	93.0
マッコウクジラ Sperm whale	(a)	158.6	76.2	198.0	1.25	95.1
アブラツノザメ Dogfish	(a)	164.2	74.6	196.6	1.20	89.3
	(c)	210.0	84.6	245.2	1.17	98.7
大ザメ Mixed shark	(a)	148.8	75.9	178.7	1.19	91.2
	(b)	143.5	72.6	182.3	1.27	92.2
	(c)	202.0	81.0	247.0	1.22	99.0
ヨシキリザメ Great blue shark	(a)	144.2	81.7	168.3	1.17	95.5
	(b)	92.4	77.0	117.8	1.28	98.2
	(b)	201.0	81.7	226.0	1.12	92.0
南方ザメ Southern shark	(a)	149.1	83.5	165.0	1.11	92.4
スケソウ，ヨシキリザメ混合 Mixture of Alaska pollack and Great blue shark	(a)	78.2	55.2	126.9	1.62	89.6
クジラ，シユモクザメ混合 Mixture of Whale and Hammer head shark	(a)	119.0	77.2	151.5	1.27	98.0
マグロ Tuna	(a)	181.3	78.5	223.2	1.23	96.5
	(c)	239.0	84.1	260.2	1.09	91.7
メカジキ Sword fish	(a)	127.9	72.1	174.0	1.36	98.0
カジキ Marlin	(b)	146.1	67.6	208.2	1.42	96.4
キハダマグロ，メバチ混合 Mixture of Yellow fin and Big eye tuna	(a)	144.1	74.4	177.0	1.23	91.3
大モノ Mixture of Tuna	(a)	96.4	61.9	153.1	1.59	98.5
カツオ Skipjack	(a)	73.3	90.0	77.0	1.05	94.8
スケソウダラ Alaska pollack	(a)	98.5	75.4	120.8	1.23	92.5
	(b)	102.0	73.6	135.8	1.32	98.1
アブラガレイ Arrow toothed flatfish	(a)	176.9	82.7	206.8	1.17	96.7
イシナギ Black sea bass	(a)	183.3	80.8	214.6	1.17	94.8
メヌケ Rockfish	(b)	202.5	72.8	244.0	1.21	87.7

(a) 前報迄の方法で得たA濃縮物
Vitamin A concentrate prepared as in the previous report.

(b) (a) を更にメタノール処理したもの
(a) treated by methanol.

(c) (a) をアルミナ吸着で精製したもの
(a) purified by alumina adsorption.

は激減する。この吸着操作を行つた精製A濃縮物と行わないものをそれぞれアセチル化して分子蒸溜を行い，その主溜分を比較した場合，臭味，色調の差はさらに顕著である。酸性白土は産地により活性が異るから弱化する苛性ソーダの量は使用白土に応じて変更する必要があろう。

諸種のA濃縮物について苛性ソーダ弱化白土による吸着処理を行つた結果を Table 8 に示す。

（4） 苛性ソーダ弱化白土によりA濃縮物を吸着処理した時の成分の変化

苛性ソーダ弱化白土を用いて大ざめ肝油より製造したA濃縮物を吸着処理し，処理の前後のA濃縮物につきそれぞれアルミナクロマト区分[10]を行つた結果は Table 9, Fig. 1 のようになる。

この図，表に見るように吸着処理により供試A濃縮物中の第3区分すなわちAよりもアルミナに吸着され易い不純物（分解物，OH 基2ケを有するアルコール類など）はほとんど完全に吸着除去され，更に第2区分すなわちAと同程度にアルミナに吸着される区分中の不純物の大半が苛性ソーダ弱化白土により吸着除去されている。苛性ソーダ弱化白土により吸着除去される不純物の多少により濃縮効果も当然異る。これらの吸着される不純物については別に報告する予定である。

Table 9. 3.5% NaOH 弱化白土による吸着処理前後のA濃縮物のアルミナ・クロマト区分による比較
Vitamin A in alumina chromatographic fractions before and after the 3.5% NaOH-acid clay adsorption.

吸着処理の前後 Before or after treatment	試料重量 Sample wt. (g)	(%)	A 単位 Vitamin A potency ×10⁴	濃縮比 Ratio of conc.	A 収量 Vitamin A yield	アルミナクロマト区分 No. of alumina chromatographic fraction	重量 Wt. (%)	A 単位 Vitamin A potency ×10⁴	A 収量 Vitamin A yield (%)
吸着前 Before	0.5395	100	123.1	—	—	I	20.2	8.8	1.5
						II	60.7	191.9	94.5
						III	19.1	—	—
吸着後 After	0.3489	64.9	181.5	1.47	95.5	I	19.7	10.5	1.8
						II	45.0	248.0	94.7
						III	0.2	—	—

試　料　大ザメ肝油濃縮物
Sample: Mixed shark liver oil concentrates.

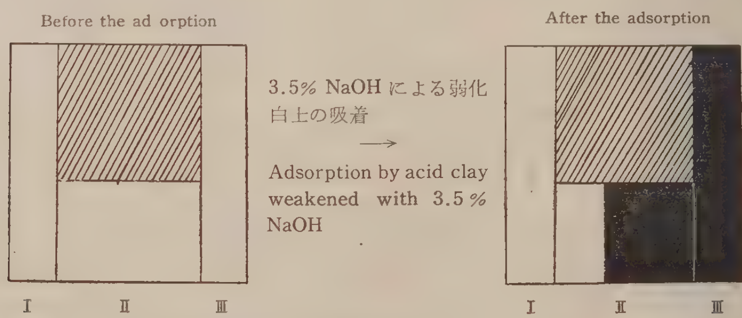


Fig. 1. NaOH 弱化白土による吸着処理前後をアルミナクロマト区分により比較
Alumina chromatographic fraction I, II and III before and after the NaOH acid clay adsorption.

斜線部分
Hatched part: Vitamin A
黒色部分　NaOH 弱化白土により吸着除去される不純物
Black part : Impurities which were removed by the NaOH acid clay adsorption.
試　料　大ザメ肝油濃縮物
Sample : Mixed shark liver oil concentrates.

Table 10. KOH にて弱化せる鹿沼土によるクロマト法
Vitamin A in chromatographic fractions of *Kanuma* earth weakened with KOH.

区分 Fraction	非吸着物 Unadsorbed matter			
	重量 Wt. (%)	A 単位 Vitamin A potency × 10^4	濃縮比 Ratio of conc.	A 収量 Vitamin A yield (%)
I	45.2	152.5	1.27	57.3
II	11.8	155.6	1.29	15.3

吸着剤 Adsorbent: 10% KOH 弱化鹿沼土，加熱 150°C *Kanuma* earth weakened by 10% KOH heated at 150°C.
試料 Sample : マグロ肝油濃縮物 Tuna liver oil concentrates Vitamin A unit, 1,203,000 u.s.p.u.
溶剤 Solvent : 両区分共にベンゼン 30 cc Benzene 30 cc in both fractions.

（5） 苛性カリ弱化鹿沼土による吸着試験

マグロ肝油より製したA濃縮物を試料とし苛性カリ弱化鹿沼土によるクロマト法を行つた結果を Table 10 に示した。

摘　　要

ビタミンAを経済的に濃縮する方法の一工程として弱化酸性白土を用いる吸着精製法を吟味した。その結果ビタミン油よりえたA濃縮物について苛性ソーダにより適当に弱化した酸性白土を吸着剤とし，ベンゼンを溶剤として分散吸着法による吸着操作を行えば，A濃縮物中の不純物は効果的に除去され，この方法は工業的に採用しうる精製操作であると思われる。

文　　献

1) 東秀雄・新間彌一郎・衣巻豊輔・山川健重: 特許 236031 (1957).
2) 東秀雄・山川健重・衣巻豊輔: 本誌 **20**, 557 (1954).
3) P. Karrer and K. Schöpp: Helv. Chim. Acta. **14**, 1431 (1931).
4) E. Lederer, P.K. Tchen, H. Pénau and G. Hagemann: Bull. soc. Chim. biol. **26**, 1032 (1944).
5) 笠間悌一・浜野貞行・上野庚次郎: 特許 164680 (1944).
6) P.B. Müller: Helv. Chim. Acta. **26**, 1945 (1943).
7) J. Green, D.O. Singleton: Analyst. **79**, 431 (1954).
8) 稲垣誠: 1956 年本会春季大会にて講演.
9) 東秀雄・山川健重・金子徳五郎・杉井麒三郎: 本誌, **25**, 59 (1959).
10) 新間彌一郎・田中稔: 本誌, **25**, 52 (1959).

水産食品の品質保存に及ぼす着色セロファンの影響—I.

小泉千秋・野中順三九

(1959年4月16日受理)

APPLICATION OF COLORED CELLOPHANE TO FISH PRODUCTS FOR THE PURPOSE OF PROLONGATION OF THEIR STORAGE LIFE—I.

Chiaki KOIZUMI and Junsaku NONAKA*

Fish products are apt to become lowered in quality through autoxidation of their oil component.

Numerous investigators have reported on the autoxidation of oil accelerated by heat, light, moisture, heavy metals, etc.

Among the lights varied in wave-length, it is known that ultraviolet is the most accelerative, coming next violet and blue.

The authors studying some chemical characteristics of specimens of methyl oleate, skipjack head oil, and lard kept wrapped with different colored market cellophanes, came to the conclusion that deep orange colored cellophane capable of absorbing all light waves shorter than 540 mμ is quite excellent in protecting these specimens from sunlight (Tables 2, 3 and 4). In wrapping of fish products, orange colored cellophane seems indeed to be superior to green colored one also in respect of its not-injuring the external appearance of these products; may be recommended to be widely used.

水産食品，特に乾製品は貯蔵中に著しく褐変し，渋味を生じるが，これは主として魚油の酸化にもとづく油焼けと呼ばれる現象である。魚肉ソーセージ，ハム等も通気性のあるケーシングを使用すると表面に近い部分から油脂が酸敗し，同時に色調も劣化する。この油脂の自働酸化は金属イオン，光線，水分，その他数々の因子によつて促進されることが多くの研究者によつて報告されている。油脂の自働酸化に対する光線の影響のうちでは紫外線の影響が最も強いといわれるが可視部でも紫外部に近い波長の光線はかなり影響することが二，三報告されている[1),2)]。

油焼けを防止するにはまず油の酸化を抑えることが必要であるが，そのためには単に酸化防止剤のみにたよらず油脂の酸化を最も強く促進する波長の光線を全く吸収してしまうような着色セロファンで食品を包装すれば一層有効に油焼けが防止されるはずである。

近年食品の包装材として着色セロファンが多く用いられているが，著者等はオレイン酸メチル，カツオ頭油，豚脂について二社の着色セロファンと油脂の自働酸化の速度との関係を調べた結果，赤色系統のセロファンのうち可視部では 540 mμ 以下の波長の光線を完全に吸収し，また近紫外部の光線をもほとんど吸収してしまうオレンヂ色のセロファンが最も優れていることを認めたので，その結果をここに報告する。

実　　験

I) 実験方法

試料油脂を径 9 cm のシャーレーに約 30 ml 採り，これを着色セロファンで覆い，さらにその上から蓋をして，直射日光のもとで一定期間曝露した後その中から一定量の油脂をとり，沃素価 (I.V.)，鹸化価 (S.V.)，過酸化物価 (P. V.)，酸価 (A. V.)，酸化酸量 (O. A.) を測定して，油脂の変化を調べた。なお着色セロファンは長期間直射日光に曝露すると褪色するので1週間毎に新しいセロファンと交換した。

* 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish., Minato-ku, Tokyo, Japan).

II) 試料油脂

A) オレイン酸メチル

a) オレイン酸メチル-(I): オレイン酸の普通品より常法によりメチルエステル化し，減圧蒸溜にてオレイン酸メチルをえた。I.V.: 81.7, S.V.: 193.0

b) オレイン酸メチル-(II): オレイン酸の特級品より常法によりメチルエステル化し，減圧蒸溜にてオレイン酸メチルをえた。I.V.: 88.6, S.V.: 191.2

B) カツオ頭油

1958年夏沼津にてえたカツオ頭油を11月に気温の低いところに放置して，ステアリンを除き濃厚な重亜硫酸ソーダ水溶液で洗浄し，さらにアルカリ精製した。I.V.: 210.1, S.V.: 185.5, P.V.: 0.40 (N/100 $Na_2S_2O_3$ ml/g) A.V.: 0.90, O.A.: 1.6%

C) 豚 脂

比較的新鮮な豚の脂肪層を肉挽器にかけ煮取り法で採油した。特に精製処理は行わなかつた。I.V.: 66.9, S.V.: 194.5, P.V.: 0.20 (N/100 $Na_2S_2O_3$ ml/g), A.V.: 1.6

III) 着色セロファン

予備実験でD社製 No. 300 の着色セロファンのうち柿，桃，緑，橙，赤，紫，黄，浅黄，水，淡紫，鶯色の 11 種のセロファンを用い混合サメ油，豚脂について行つた曝露試験の結果，比較的短波長の光線を吸収する傾向を有する柿，桃，橙，赤，緑等のセロファンが良い結果を与えたので，この実験ではD社製の No. 300 の着色セロファン柿，桃，橙，赤，緑とT社製の No. 300 の着色セロファンの赤，緑，オレンヂ，タンゴを用いた。各着色セロファンの吸収曲線は Fig. 1～12 に示す通りである。

結 果

I) オレイン酸メチル-(I) とD社製着色セロファン柿，桃，緑，橙，赤，無色（対照）による実験: 測定は曝露開始後5日目，16 日目，38 日目に行つた。この曝露期間のうち直射日光に曝露した日数は開始後5日目までに5日間，16 日目までに 14 日間，38 日目までに 29 日間あつた。着色セロファンは全実験期間中新しいものと交換せずに同一セロファンで行つた。結果は Table 1 に示すごとく柿色の変化が最も少なく続いて赤，橙，緑，桃色の順序であつた。

II) オレイン酸メチル-(II) と T 社製の着色セロファン赤，緑，オレンヂ，タンゴ，無色（対照）および D 社製着色セロファン柿色による実験: 測定は曝露開始後 10 日目，24 日目，38 日目に行つた。この曝露期間のうち直射日光に曝露した日数は開始後 10 日目までに5日間，24 日目までに 11 日間，38 日目までに 21 日間あつた。着色セロファンは1週間毎に新しいものと交換した。結果は Table 2 に示すごとくオレンジの変化が最も少なく，続いて赤，柿，緑，タンゴの順序であつた。

III) カツオ頭油と T 社製着色セロファン赤，緑，オレンヂ，無色（対照）及び D 社製着色セロファン柿色による実験: 測定は曝露開始後 13 日目，25 日目に行つた。この曝露期間のうち直射日光に曝露した日数は開始後 13 日目までに 10 日間，25 日目までに 15 日間あつた。着色セロファンは1週間毎に新しいものと交換した。結果は Table 3 に示すごとく油の変化はオレンヂが最も少なく続いて赤，柿，緑の順序であつた。

IV) 豚脂と T 社製着色セロファン赤，緑，オレンヂ，無色（対照）および D 社製着色セロファン柿色による実験: 測定は曝露開始後5日目，12 日目，26 日目に行つた。この曝露期間のうち直射日光に曝露した日数は開始後5日目までに3日間，12 日目までに8日間，26 日目までに 14 日間あつた。着色セロファンは1週間毎に新しいものと交換した。結果は Table 4 に示すごとく油脂の変化はオレンヂが最も少なく，続いて赤，柿，緑の順序であつた。

考 察

油脂の劣化に対する光線の影響についてのわれわれの研究では油脂の酸化程度の指標としては多くの場合，過酸化物価が用いられているが，過酸化物価は油脂の酸化の比較的初期にしか適用できないし，またこの[illegible]の変化を[illegible]知る必要があるため，過酸化物価の外に沃素価，鹸化価，酸価，酸化酸量等も合せて測定した。

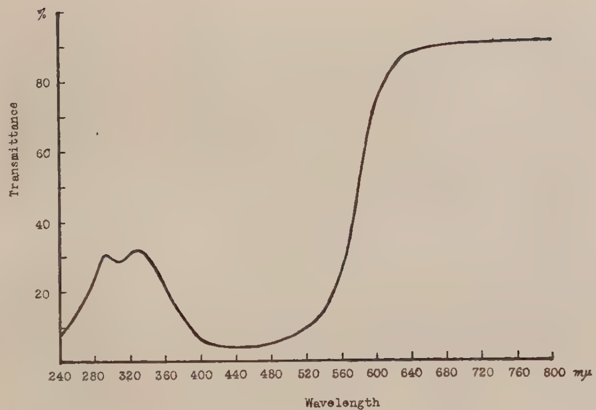


Fig. 1. Absorption spectrum of yellowish brown colored cellophane (D).

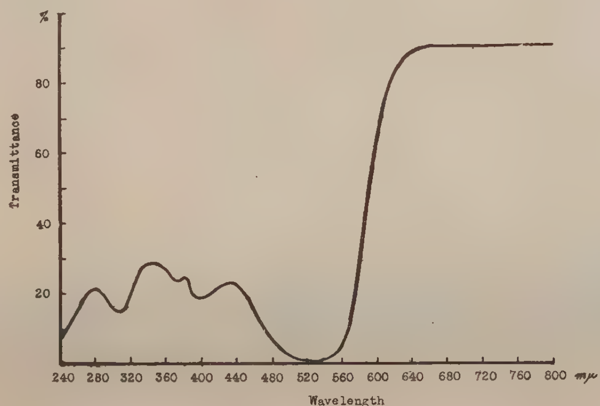


Fig. 2. Absorption spectrum of red colored cellophane (D).

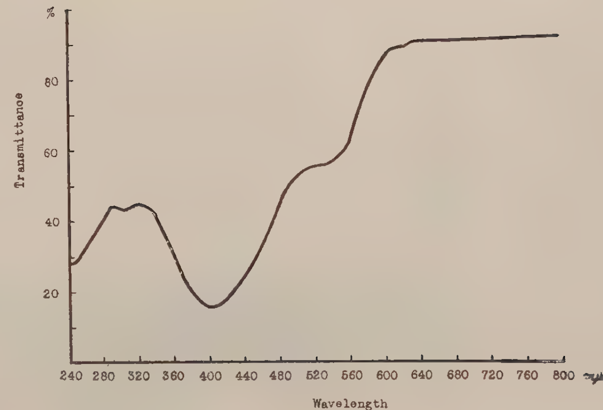


Fig. 3. Absorption spectrum of orange colored cellophane (D).

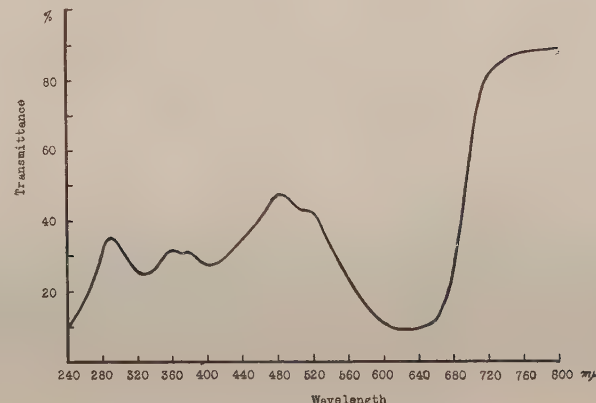


Fig. 4. Absorption spectrum of green colored cellophane (D).

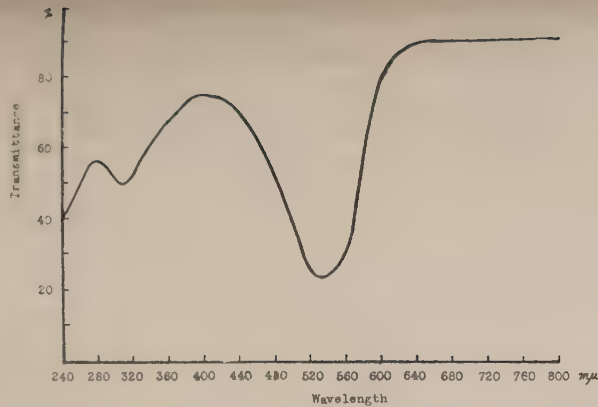


Fig. 5. Absorption spectrum of pink colored cellophane (D).

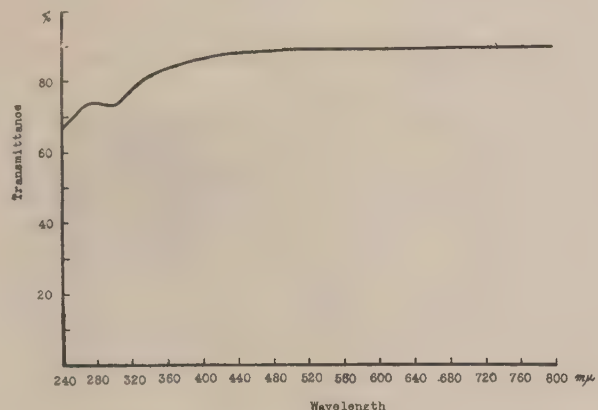


Fig. 6. Absorption spectrum of colorless cellophane (D).

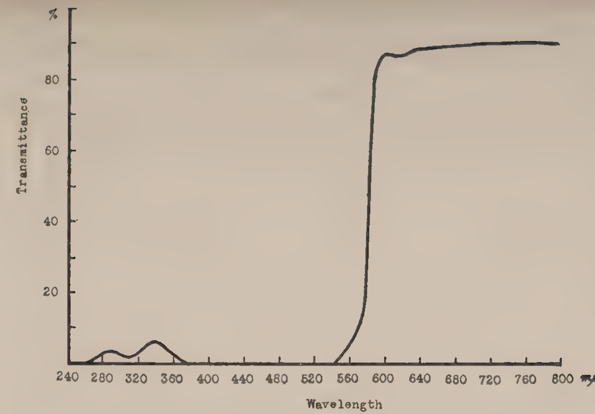


Fig. 7. Absorption spectrum of orange colored cellophane (T).

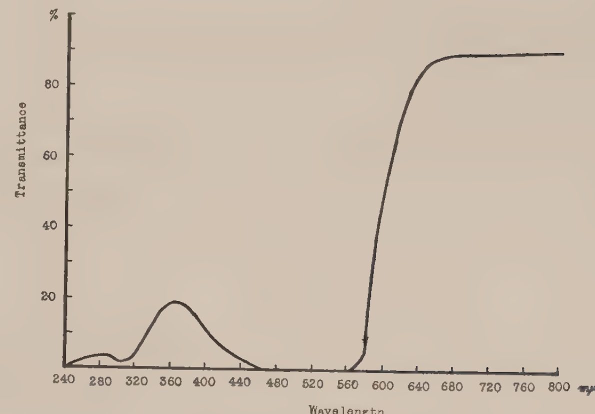


Fig. 8. Absorption spectrum of red colored cellophane (T).

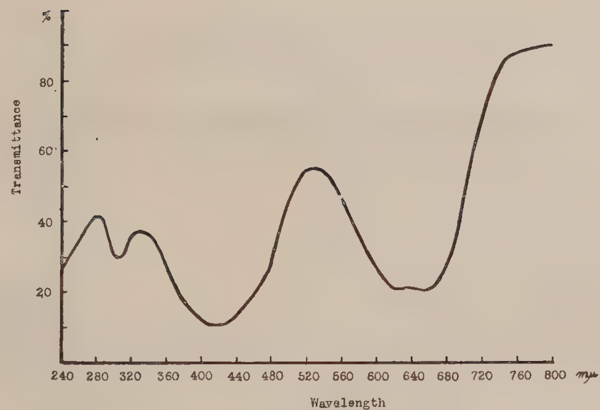


Fig. 9. Absorption spectrum of green colored callophane (T).

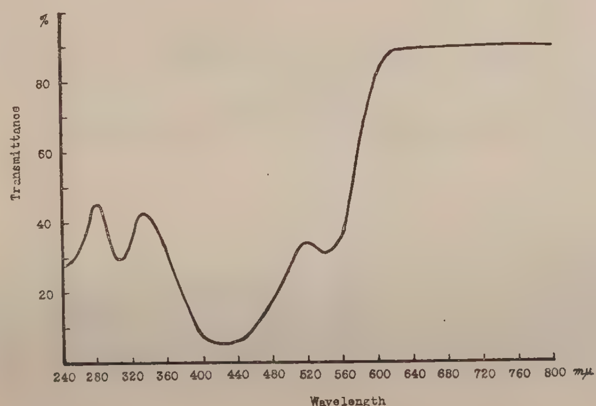


Fig. 10. Absorption spectrum of tango colored cellophane (T).

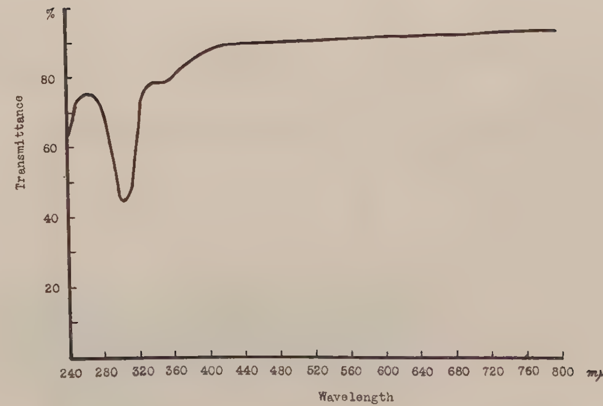


Fig. 11. Absorption spectrum of colorless cellophane (T).

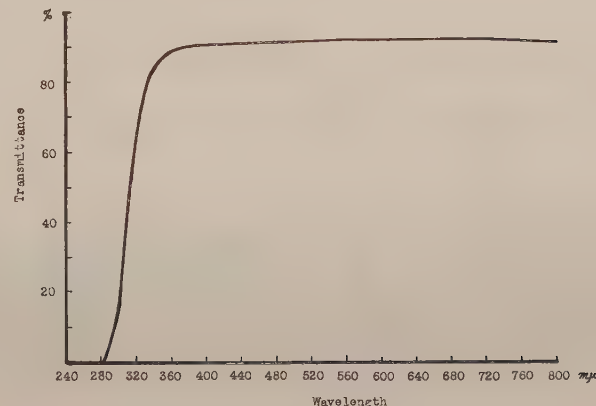


Fig. 12. Absorption spectrum of glass used.

Table 1. Chemical properties of methyl oleate-(1) protected from sunlight with different colored cellophanes.

Color of cellophane \ days	Iodine value				Saponification value				Peroxide value*				Acid value				Oxidised acid (%)			
	0	5	16	38	0	5	16	38	0	5	16	38	0	5	16	38	0	5	16	38
Colorless (D)	81.7	77.4	68.0	56.0	193.0	201.7	209.8	232.1	0.0	35.6	98.0	154.0	—	1.7	6.8	16.1	—	1.1	2.0	4.4
Yellowish brown (D)	〃	79.2	72.6	62.7	〃	197.2	205.1	222.5	〃	25.6	80.0	142.2	〃	1.3	4.2	10.8	〃	1.2	1.9	2.1
Red (D)	〃	78.6	72.3	61.4	〃	196.0	209.7	223.5	〃	27.8	86.6	144.8	〃	1.5	4.8	11.6	〃	1.2	1.5	3.0
Orange (D)	〃	78.8	71.2	60.2	〃	199.0	213.9	226.7	〃	33.0	92.6	147.8	〃	1.5	5.6	12.7	〃	1.2	1.9	2.7
Green (D)	〃	78.4	70.8	58.8	〃	199.0	208.0	228.5	〃	30.8	94.4	155.2	〃	1.5	5.5	14.0	〃	0.93	1.9	3.0
Pink (D)	〃	78.8	68.9	59.9	〃	202.6	210.7	228.7	〃	34.8	95.8	150.6	〃	1.6	6.7	13.7	〃	1.0	1.9	3.5

* Expressed as N/100 $Na_2S_2O_3$ *ml*. per 1 g. of methyl oleate-(1).

Table 2. Chemical properties of methyl oleate-(II) protected from sunlight with different colored cellophanes.

Color of cellophane \ days	Iodine value				Saponification value				Peroxide value*				Acid value				Oxidised acid (%)			
	0	10	24	38	0	10	24	38	0	10	24	38	0	10	24	38	0	10	24	38
Colorless (T)	88.6	78.2	66.8	59.6	191.2	206.1	221.5	233.3	0.0	71.6	118.0	147.8	—	3.7	10.0	17.0	—	trace	3.2	6.1
Orange (T)	〃	86.2	85.0	79.7	〃	195.4	198.0	205.8	〃	15.2	41.6	79.2	〃	1.7	2.0	3.6	〃	〃	trace	trace
Red (T)	〃	83.6	77.5	68.5	〃	199.3	210.0	223.2	〃	37.2	92.0	133.4	〃	1.9	4.8	9.9	〃	〃	1.2	2.9
Yellowish brown (D)	〃	83.6	74.7	67.2	〃	202.2	211.6	225.0	〃	44.6	98.2	139.6	〃	2.2	5.7	11.0	〃	〃	1.4	2.9
Green (T)	〃	82.3	73.6	65.7	〃	204.4	212.9	226.4	〃	51.2	106.2	140.6	〃	2.3	6.0	11.0	〃	〃	1.5	3.4
Tango (T)	〃	80.7	71.6	63.6	〃	206.4	214.9	229.2	〃	61.4	113.2	146.2	〃	2.7	7.1	13.2	〃	〃	1.9	4.1

* Expressed as N/100 $Na_2S_2O_3$ *ml*. per 1 g. of methyl oleate-(II).

Table 3. Chemical properties of skip-jack head oil protected from sunlight with different colored cellophanes.

Color of cellophane \ days	Iodine value			Saponification value			Peroxide value*			Acid value			Oxidised acid (%)		
	0	13	25	0	13	25	0	13	25	0	13	25	0	13	25
Colorless (T)	210.1	185.8	155.7	185.5	208.6	225.6	0.40	52.4	127.6	0.90	8.0	17.9	1.6	4.9	12.8
Orange (T)	〃	209.0	197.9	〃	192.7	202.6	〃	7.8	43.6	〃	1.5	3.5	〃	1.5	3.9
Red (T)	〃	205.2	175.6	〃	195.4	218.1	〃	15.6	102.6	〃	2.1	7.7	〃	1.8	8.6
Yellowish brown (D)	〃	201.3	169.6	〃	200.1	227.5	〃	24.2	120.2	〃	3.6	10.8	〃	3.0	10.3
Green (T)	〃	197.4	165.9	〃	202.1	220.1	〃	30.6	135.4	〃	4.5	11.1	〃	2.5	9.8

* Expressed as N/100 $Na_2S_2O_3$ m*l*. per 1g. of skip-jack head oil.

Table 4. Chemical properties of lard protected from sunlight with different colored cellophanes.

Color of cellophane \ days	Iodine value				Saponification value				Peroxide value*				Acid value				Oxidised acid (%)			
	0	5	12	26	0	5	12	26	0	5	12	26	0	5	12	26	0	5	12	26
Colorless (T)	66.9	66.3	65.1	60.0	194.5	198.1	199.9	206.4	0.20	5.1	16.7	37.0	1.6	—	2.7	4.2	—	—	trace	trace
Orange (T)	〃	66.8	67.1	65.2	〃	197.0	198.5	200.9	〃	0.76	1.0	16.6	〃	〃	1.4	2.2	〃	〃	〃	〃
Red (T)	〃	66.2	65.7	62.7	〃	197.2	201.1	204.2	〃	2.2	10.4	33.6	〃	〃	1.7	3.5	〃	〃	〃	〃
Yellowish brown (D)	〃	66.8	65.5	62.0	〃	198.2	201.3	204.2	〃	3.0	12.0	35.4	〃	〃	2.9	3.3	〃	〃	〃	〃
Green (T)	〃	66.9	65.3	61.5	〃	198.9	199.6	205.0	〃	4.0	13.9	40.4	〃	〃	2.4	3.6	〃	〃	〃	〃

* Expressed as N/100 $Na_2S_2O_3$ m*l*. per 1g. of lard.

この実験に用いた着色セロファンは長期間，直射日光に曝露すると色が褪せるが，このセロファン自身の褪色の様子を可視部の各波長に対する光線の透過率によつて調べて見ると1週間の曝露では各セロファンともまつたく褪色しないことを認めたので曝露試験中は1週間毎に新しいセロファンと交換して褪色の影響を除いた。ただオレイン酸メチル-(I) の場合は全曝露期間中セロファンを交換しなかつたために多少この影響を受けたものと思われる。

オレイン酸は各種の油脂中に広く分布しているので先づオレイン酸のメチルエステルについてD社製の着色セロファンで実験したが，その結果は Table 1 に示すごとく柿色のセロファンで保護したエステルの変化が最も少なく，続いて赤，橙，緑，桃色の順序であつた。この場合は各セロファン間の優劣の差は比較的少なく特に橙色と緑色のセロファンとの間には有意の差は認められなかつた。つぎにこのD社製のセロファンの結果と T 社製のセロファンのそれとを比較するために T 社製のオレンヂ，赤，緑，タンゴにD社製の柿色を加えた5種の着色セロファンで同じくオレイン酸メチルで曝露試験を行つた。その結果によるとエステルの変化を最小に抑えたのはオレンヂ色のセロファン（T社）であり，続いて赤（T社），柿（D社），緑（T社），タンゴ（T社）の順序であつたが，P.V., I.V., S.V., A.V., O.A. 等のいづれの測定結果からもオレンヂ色のセロファンが抜群の好成績を示した。Table 2 の P.V. についていえば曝露開始後 10 日目で対照区（無色）のそれが 71.6(N/100 $Na_2S_2O_3$ ml/g)，赤が 37.2，柿が 44.6 であつたのに対し，オレンヂは僅かに 15.2 を示すに過ぎなかつた。I.V., S.V., A.V. 等の測定値もこれと同じ傾向を示した。したがつて，D, T 両社の着色セロファンを通じてこのオレンヂ色のセロファンがオレイン酸メチルの酸化に対する光線の作用に対して最も優れた保護作用を有しつぎに赤（T社），柿（D社）の順序であるといいえる。また，カツオ頭油および豚脂の曝露試験において，豚脂は魚油などに比して非常に安定で曝露試験中変化は少なかつたが，傾向としてオレイン酸メチルの場合と全く同じ結果がえられた。

供試油の日光曝露試験の結果と用いた着色セロファンの可視部および近紫外部の吸収曲線 (Fig. 1～11) とを考え合せると緑色（D, T 両社共）以外のセロファンが皆 600 mμ より長波長の部分で全く同じ透過率を有することからこれら油脂の酸化に特に関係を有する光線は当然 600 mμ 以下の短波長の光線であると思われる。またこの実験では着色セロファンの上からシャーレーの蓋をしているのでこの蓋が紫外線を吸収することが考えられるが，事実 Fig. 12 に示すごとくここで用いたシャーレーの蓋は厚さによつて多少の差はあるが大体 280 mμ 以下の紫外線を完全に吸収しているので，事実上は 300 mμ 以下の紫外線は考慮の要がない。したがつて供試油の酸化に関係があるのは 300 mμ から 600 mμ までの波長域の光線であつて，オレンヂ色のセロファンが全実験を通じて最も良好な結果を与えたのは，このセロファンが 540 mμ 以下の可視部の光線を完全に吸収し，また近紫外部において 340 mμ 附近に僅かに透過があるだけで 300 mμ から 600 mμ の波長域の光線の透過量が他のセロファンに比して最も少ないことから当然の結果である (Fig. 7)。またこの波長域では赤色セロファン（T社）はオレンヂについで透過光線量が少なく以下柿色（D社）の順で橙色（D社），タンゴ（T社），桃色（D社）等に至つては可成り透過光線量が多くなり，供試油の酸化速度が早かつたのも当然であろう。緑色のセロファンが 300 mμ～600 mμ の波長域において透過光線量の多い割に比較的良い結果を与えたことはこれだけの資料からでは何も推論することはできない。

着色セロファンの上からシャーレーの蓋をのせたので約 280 mμ 以下の紫外線は全く吸収されたが，実際食品をこれら着色セロファンで包装した場合にはガラスによる吸収はなくなり 280 mμ 以下の紫外線もまた油脂の酸化に関係することは当然である。オレンヂ色のセロファンが 300 mμ 以下の近紫外部の線光をほとんど吸収するのに対し他の供試着色セロファンは可成り透過するので実際的にはオレンヂ色のセロファンと他の着色セロファンとの間にさらに著しい差異が生じるものと考えられる。したがつてオレンヂ色のセロファンを水産食品の包装材料に用いれば油脂の酸化を抑え品質保持に大いに役立つであろう。ただしオレンヂ色のセロファンが良いといつても肉眼的にオレンヂ色であるということでなく 540 mμ 以下の短波長の光線をほとんど吸収してしまうものであることはいうまでもない。

本研究の研究費の一部は文部省試験研究費によつたここに記して謝意を表する。

文　　献

1) George R. Greenbank and George E. Holm: *Ind. Eng. Chem.*, 33, 1058～1060 (1941).
2) Mayne R. Coe: *Oil and Soap*, 18, 241～244 (1941).

水産物に添加された酸化防止剤の定量に関する研究—I.

BHA の抽出並びに比色定量法の適用について

外山健三・中井迪夫・山鹿 宏

(1959 年 4 月 22 日受理)

ESTIMATION OF ANTIOXIDANTS ADDED TO THE MARINE PRODUCTS—I.

EXTRACTION AND COLORIMETRIC ESTIMATION OF BHA.

Kenzo TOYAMA, Michio NAKAI, and Hiroshi YAMAGA.*

To obtain a method suitable for determining the BHA added to marine products, three colorimetric methods were compared with one another: 2,2′-dipyridyl (2,2′-DP) method[3], 2,6-dichloroquinonechloroimide (2,6-D) method[4], and potassium ferricyanide ($K_3Fe(CN)_6$) method[6].

The antioxidant was drawn from the products together with crude oil by the Soxhlet extraction extended over 16 hrs., using peroxide-free ethyl ether. After evaporating-off the solvent under reduced pressure, BHA was extracted by a modified method (see Table 1), and subjected to each colorimetric estimation mentioned above.

From the results obtained, only the 2,6-D method was found to be available because of the specific reactivity of 2,6-D reagent towards BHA. In the case of the other two methods, the reagents reacted with some other materials coming dissolved in alcoholic extracts of crude oil. It is possible, therefore, when the estimation is made with any of the latter methods, that the results become too large and misrepresent spurious substance as BHA. Consequently, the said two methods should be regarded as inapplicable to the case of marine products.

水産物の油焼防止は加工工程中に適当な酸化防止剤を加えることによつて極めて良好な結果がえられるということは，これまでの多数の研究[1]によつて明らかであり，すでに一部では実用化されるにいたつている。

しかしながら，水産製品に添加された酸化防止剤の定量については，先に猿谷・安藤等[2]が 2,2′-dipylidyl 法による BHA の定量を報告したほかほとんど検討されていない。

油脂中の BHA の定量については，溶剤抽出法[3)4)]か蒸溜法[5]で当該成分を分別した後，(1) 発色試薬を用いて可視部スペクトル[3)4)6)]，(2) 紫外部吸収スペクトル[7]，(3) 赤外部吸収スペクトル[8]あるいは (4) ポーラログラフ[9)10)]等によつて定量する方法が報告されているが，その外識別法としてペーパークロマトグラフ法[11]もある。

著者等は BHA を含む水産製品をソックスレー抽出器にかけて BHA を粗脂肪とともにエーテルで抽出した後，この抽出物を更に溶剤抽出法で処理して BHA を粗脂肪から分離し，発色試薬を用いた可視部スペクトル法としてすでに報告されている 3 種の比色定量法により測定を行い，三者の測定法を比較検討したのでその結果を報告する。

実験の部

1. 比色試料の調製

冷凍サンマを解凍後，脊開きにして BHA 0.01% 浸漬液 (7.5% 食塩溶液)[1] に 16 時間浸漬後 1 日間天

* 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish. Minato-ku, Tokyo, Japan).

日乾燥し，この魚肉をチョッパーで細切混合し，倍量の無水芒硝と良く混和した後，過酸化物を除去したエーテルにより粗脂肪を 16 時間抽出した。つぎにこの粗脂肪から BHA の分離は MAHON 等[3] の方法に準じて行つたが水産物を対象とする時は，試料から多量の油脂をうることは困難な場合が多いのでつぎのごとく変更した。

試料油脂 2g. を 300 ml. の分液漏斗にとり，精製石油エーテル混合物[3] 25 ml. にとかす。この溶液を毎回 20 ml. の 72% アルコールで 3 分間づつ 3 回，1 分間 120 回転の速度で振盪抽出する。つぎに 72% アルコール 30 ml. で同様に 1 分間振盪し 4 回目の抽出を行う。抽出液を合して 72% アルコールで 100 ml. とし，沪過して定量に供する。

2. BHA の比色定量法

前記抽出液について行つた BHA の比色定量法は，いずれも油脂についての報告を，そのまま踏襲したものであるがその概略はつぎのとおりである。

（イ） **2,2′-dipyridyl 法**[3]（以下 2,2′-DP 法と略す）

72% アルコール抽出液を 1～5 ml. の範囲内で黒色テープを巻いて遮光した 20 ml. 共栓三角フラスコ 3 個にとり，72% アルコールで 5 ml. にする。これに 100% アルコール 3 ml., 0.2% 2,2′-dipyridyl 試薬 2 ml., 塩化第二鉄試薬 2 ml. を加え直ちに栓をして静かに内容物を混合する。塩化第二鉄試薬を加えてから 30 分後に溶液を比色管に移し 515 mμ の吸光度を光電比色計により測定する。

（ロ） **2,6-dichlorochinonchloroimide 法**[4]（以下 2,6-D 法と略す）

72% アルコール抽出液を 1～12 ml. の範囲内で 20 ml. 共栓フラスコ 3 個にとり，72% アルコールで 12 ml. とする。これに 0.01% 2,6-dichlorochinonchloroimide 試薬 2 ml. と 2% 硼砂試薬 2 ml. を加え内容物を混合し，15 分後に光電比色計により 610 mμ の吸光度を測定する。

（ハ） **Potassiumferricyanide-Ferric sulphate 法**[8]（以下 $K_3Fe(CN)_6$ 法と略す）

72% アルコール抽出液を 1～10 ml. の範囲内で 20 ml. 共栓三角フラスコ 3 個にとり，72% アルコールで 10 ml. とする。0.2% $K_3Fe(CN)_6$ 試薬 0.5 ml. と 0.5% 硫酸第二鉄試薬 0.5 ml. を加え，混合して 15 分間暗所に放置して発色させ光電比色計により 650 mμ の吸光度を測定する。

なお本実験では，酸化酸は FAHRION[12] の方法にしたがい，過酸化物は LEA[13] の "*Hot*" method によつて測定し，結果を油脂 1 kg. あたりの過酸化物態酸素のミリ当量数で表示した。

結果および考察

1. 油脂から BHA を抽出する際の回収率

前述の如く，本研究においては油脂から BHA を抽出する場合，MAHON 等[3] の方法を変更して実施したので，まずその回収率を実験室で調製した[3] 局方大豆油と，あらたに水素添加したサンマ油について測定し，その結果を Table 1 に示した。えられた回収率はいずれも数％の誤差範囲内にあつたが，試験濃度の両限界（0.005% と 0.05%）では，幾分誤差が大きいことが認められた。これらの結果は，いずれも BHA の回収率についての他の報告[3)5)6)] に比べて大差なく，まず申し分ないと考えられる。

Table 1. The recovery of BHA from the oil by a modified extraction procedure*

BHA concentration	Amount of BHA recovered from	
	Soy bean oil**	Hydrogenated saury oil***
%	%	%
0.005	0.0048	0.0051－0.0054
0.010	0.0103－0.0105	....
0.015	0.0156－0.0158	0.0150
0.020	0.0202－0.0208	....
0.030	....	0.0306－0.0308
0.050	....	0.0526－0.0535

* Extraction procedure of MAHON *et al*[3]. was modified as follows: Place 2g. of sample in a 300 ml. separatory funnel and dissolve in 25 ml. of purified petrolum ether. Extract the BHA from the petrolum ether solution of the oil with three separate 20 ml. aliquots of purified 72% ethyl alcohol by shaking for 3 minutes per extraction. Make a fourth extraction, using 30 ml. of 72% ethyl alcohol and shaking for 1 minute. Combine the four alcoholic extracts, and dilute to 100 ml. with 72% alcohol.

** The oil freed from oxidising substances by the method of MAHON *et al.*[3]

*** The oil with peroxide value of 2.67 meq./kg. of oil.

2. ソックスレー抽出法の適用についての検討

魚肉に添加された BHA をソックスレー抽出器によつて粗脂肪とともに抽出する場合に，問題となるのは，第一にその全量を抽出するのに必要な時間であり，第二には抽出中における加熱の影響であり，第三に抽出終了後エーテル駆除に際して BHA の損失がないかということである。

抽出時間を正確に決定するには，既知量の BHA を含む魚肉が必要であるが，これは極めて困難である。AUSTIN[14] は紙に添加した BHA がソックスレー法により 80% アルコールを使用した場合 10 時間で十分抽出されるといつている。本研究においては，粗脂肪の完全抽出を目標として前記のごとく 16 時間の抽出時間を採用した。したがつて抽出中における加熱その他の影響を検討するために，既知量の BHA を含む油脂 2g. を 500 ml. のソックスレー抽出器の受器にとり，過酸化物を除去したエーテルを加え，60°C に調節したバス上にセットし，エーテルの回転率を調節するために，円筒沪紙には，魚肉の代りに海砂をつめて使用した (Table 2). なおエーテルを溜去する場合油脂中の BHA はほとんど影響をうけないことを認めた。

これらの結果を先の Table 1 に示した回収率の結果を参照してみると，魚肉からソックスレー法により BHA を粗脂肪とともに抽出すると，抽出操作中にその数 % が減少するらしい。この BHA の減少は試料油脂中にすでに形成されていた過酸化物との反応によつて起つたものではないかと思われる。新しい原料に BHA を加えた製品では，過酸化物の形成量は極めて少ないものであるから，その影響はかなり少ないのではなかろうか。いずれにせよ，Table 2 の結果からソックスレーを用いて過酸化物を除去したエーテルで BHA を粗脂肪とともに抽出する方法は，抽出操作による BHA の損失が少なく，実用に供しうるものと考えられる。

Table 2. Examples of BHA loss in oil during Soxhlet extraction*.

No. of sample	Amount of BHA before the extraction	after the extraction sample A**	sample B***
%	%	%	%
1	0.005	..	0.0042
2	0.015	..	0.0140
3	0.020	0.0187	..
4	0.030	..	0.0291
5	0.050	0.0462	..

* The experimental procedure is as follows: place the sample oil containing a known quantity of the BHA in 300 ml. Soxhlet reciever flask and dissolve in peroxide-free ethyl ether. Equip the reciever flask to the Sohxlet extraction apparatus involving the extraction cup charged with sea sand in place of fish sample. The bath-temperture was maintained 60°C. throughout the experiment. After 16 hrs'. reflux, evaporate the ether under reduced pressure. The amount of BHA was determined by the procedure shown in Table 1.

** Steam-rendered saury oil, having a peroxide value 6.55 meq./kg. of oil.

*** Hydrogenated saury oil, having a peroxide value 2.67 meq./kg. of oil.

3. 塩乾サンマ中の BHA 定量法として3種の比色定量法の比較

先に記した方法で調製した比色用の試料を前記3種の比色定量法で測定した結果を Table 3 に示した。

今，仮に 2,6–D 法によつてえられた結果を 100 とすると，2,2′–DP 法は 113，$K_3Fe(CN)_6$ 法では 182 という比率を与える。このように 2,6–D 法に比べて他の二つの方法がかなり大きな値を与えた理由としては，2,6–D 試薬が BHA に対して特異的なものである[4)5)] のに対して，他の二つの

Table 3. Comparison among the three methods as applied BHA containing salted-and-dried saury.

Method of estimation	Sample*	Amount of BHA in oil	in fish flesh	Ratio
		%	%	%
2,6–D	A	0.0123	0.0012	100.0
	B	0.0118	0.0011	
2,2′–DP	A	0.0138	0.0013	113.0
	B	0.0147	0.0013	
$K_3Fe(CN)_6$	A	0.0225	0.0022	182.6
	B	0.0216	0.0020	

* Samples weighed as follows:

	Fish flesh	Extracted oil in total	Oil analysed
Sample A	50.0 g.	9.7385 g.	1.9953 g.
Sample B	50.0 g.	9.7945 g.	2.1499 g.

試薬は BHA 以外の還元性物質とも反応しやすいものである[4)15)]から恐らく供試比色液中には BHA 以外にこれらの試薬と反応しやすい還元性物質が混入しているものと考えられる。

ところで，油脂中に BHA と BHT が共存する時，BHT の定量には 2,2′-DP 法と 2,6-D 法による定量値の差が計算基準として使用されているから，2,2′-DP 法の場合に，試料中に BHA 以外の還元性物質で BHA と同じような呈色反応を与える物質が存在するとそのすべてを BHT として誤認するような場合もあるから注意しなくてはならない。

4. 市販水産物中の BHA 類似呈色反応を与える物質について

前項の結果から，水産物の抽出液中には，2,2′-DP 試薬等と反応する BHA 以外の物質が存在するらしいので，煮干，冷凍サケ等二，三の市販水産物について前記と同様の抽出操作を行い，その呈色反応を検討した (Table 4)。果して，いずれの試料においても，その抽出液は 2,2′-DP 試薬により相当の呈色を示したが，同じものについて 2,6-D 試薬は何等の反応を示さなかつた。

Table 4. The BHA-like color development in the oil-free alcoholic extracts of commercial marine products.

No. of sample	Kind of marine products	Conditions of storage	Virtual BHA colorimetrically estimated for marine products extracts: 2,2′-DP method	2,6-D method
1	Boiled-and-dried sardine	about 60 days at room temp.	0.0370% in oil	0% in oil
2			0.0373	0
3	Frozen salmon	about 90 days at −20°C.	0.0060	0
4			0.0043	0
5			0.0053	0
6	Salted-and-dried saury	at room temp., 1 day	0.0069	0
7		3 days	0.0104	0
8		6 days	0.0117	0
9		16 days	0.0137	0

この抽出液中に混入してくる物質は，いずれ魚肉か油脂に由来するものであろうが，これまでの報告からその可能性のあるものを拾うと，魚肉中の SH 基を含む物質[15)]とか，油脂中のカロチン，ビタミン A アルコール[16)]および油脂の第二次酸化生成物[3)]がある。しかしながら Table 4 の結果に明らかなように，貯蔵条件の悪い，すなわち酸化の進んだ試料からえられた抽出物ほど，呈色が強い傾向があるから，これらの中では油脂の第二次酸化生成物が最も可能性が大きい。

試みに二，三の油脂を AOM 法で酸化させた後，石油エーテル溶液とし，これを前記抽出操作にしたがつて処理したものは，処理前に比し酸化酸量が減少し，アルコール溶液中に酸化酸の一部すなわち油脂の酸化生成物の一部が移行していることが判る (Table 5)。

Table 5. The removal of oxidised acid from petrolum ether solution of oil into the alcoholic layer by 72% alcohol extraction.

No. of sample	Kind of oil	Amount of oxidised acid: before extraction	after extraction	Solid matter in alc.**	Relative removal of oxidised acid
1	Saury oil	1.92 %	1.64 %	0.52	14.6 %
2	Saury oil*	20.44	17.33	3.30	15.2
3	Salmon head-oil*	16.84	14.61	3.97	13.2
4	Skip jack head-oil*	29.16	24.81	4.01	14.9

* The oil was oxidised under the AOM conditions.

** Total solid matter in alcohol extracts as weight per cent of sample oil.

このように BHA 抽出操作によつて，比色液中に試料油脂の酸化生成物が混入してくる例は，これまでに検討されたラードとか植物油の場合には殆んど報告されていないが，これは水産物油脂が一般に多量の高度不飽和酸を含有するために貯蔵中の変化が著しくラード等に比し，多量の酸化生成物を含んでいる場合が多いことによるものと思われる。

5. 油焼の進行に伴う呈色反応の変化

BHA 類似呈色物と，試料の油脂酸化生成物との関係を一層明らかにするために，BHA を添加しない塩乾サンマを調製し室温に放置して油焼を進行せしめ，その間適宜の間隔で前記同様粗脂肪を抽出し，BHA 抽出操作にしたがつて 72% アルコール抽出液を調製した。また抽出した油脂中の酸化酸の 72% アルコール溶液を調製し，それぞれを前記三種類の比色定量法によつて測定した結果を Table 6 に示した。

Table 6. The intensity changes of the color developed by BHA estimation procedure**, for the alcoholic extracts obtained by BHA separating method, and for the alcoholic solution of oxidised acid, respectively, of the oil extracted from a stock of salted-and-dried saury.

No. of sample	Days of storage	Properties of extracted oil		Optical densities per mg. of solid matter in						Amount of solid matter*
				oxidised acid estimated with			alcoholic extracts estimated with			
		Peroxide value	Oxidised acid	(2,2′-DP)	(2,6-D)	($K_3Fe(CN)_6$)	(2,2′-DP)	(2,6-D)	($K_3Fe(CN)_6$)	
		meq./kg.	%							mg./100 ml.
1	0	37.9	1.28	0.079	0.022	0.046	0.014	0.001	0.021	110.2
2	2	99.6	1.85	0.185	0.048	0.146	0.020	0.003	..	114.2
3	6	151.7	2.11	0.200	0.042	0.206	0.022	0.001	..	109.8
4	10	157.8	2.33	0.245	0.050	0.258	0.022	0.002	..	133.0

* For solid matter in extracts (mg./100 ml.) obtained from 2g. of oil.
** optical densities attained in 2,2′-DP, 2,6-D, and $K_3Fe(CN)_6$ methods were about 0.10, 0.09, and 0.11 per 10γ BHA, respectively.

今，抽出液を 5～10 ml. とつた場合について考えると，2,6-D 法では実験期間を通じて optical density は大体 0.01 であるが，2,2′ DP 法および $K_3Fe(CN)_6$ 法では，製造直後の塩乾品からの抽出液でさえも，それぞれ 0.07～0.14，0.10～0.21 の optical density を示した。BHA 10μg. の optical density は大体 0.1 であるから，これらの結果の中，2,6-D 法ではほとんどその影響は考えられないが，他の二つの方法では，その結果を BHA として誤認するおそれが強い。その上，塩乾品の貯蔵期間が経過するに伴つて，2,2′-DP 法では抽出物の呈色がさらに増加する傾向があり，$K_3Fe(CN)_6$ 法では比色液が混濁して測定に支障をきたすようになる。

したがつて，魚肉について BHA を定量する際には，2,6-D 法が最も適当であり，他の二法は不適当であると思われる。

酸化酸溶液について各比色法が示した結果は，アルコール抽出液中の呈色物質が油脂の第二次酸化生成物であろうという考えを，一層強く支持するように思われる。油焼の進行に伴つて，酸化酸は単にその量がふえるだけでなく，これらの試薬に対する反応性を次第に増加することは，アルコール抽出液中の固形量が実験期間中大きな変化がないこととともに興味が深い。これら呈色物質については，今後の研究によつて解明したいと思う。

要　　約

水産物の油焼を防止するために加えられた酸化防止剤 (BHA) を定量する方法として，試料からソックスレーで粗脂肪とともに BHA を抽出した後，石油エーテル溶液となし，72% アルコールで分離して，2,6-D 法，2,2′-DP 法，$K_3Fe(CN)_6$ 法の三種の比色定量法を用い比較検討した結果，2,6-D 法以外のものでは，抽出液中に混入している BHA 以外の物質と反応してかなりの呈色を示すために，定量の際に過大な結果を

招くのみならず，BHA が添加されていない場合においてさえもその存在を誤認するおそれがあるので，水産物について BHA を定量する方法としては不適当であると考えられる。2,2′-DP 試薬と反応する他物質が抽出液中に混入してくることは，BHA の場合だけでなく BHT の定量をも妨害することになる。

本研究に際し，御助言を戴いた教授猿谷九万先生，報文の御校閲を戴いた助教授野中順三九博士，御援助を戴いた日本捕鯨油株式会社ならびにサンマ油を供与されたミヨシ油脂株式会社研究部に，厚く御礼申上げます。

文　　献

1) 猿谷九万・外山健三・安藤一夫: 本誌, **20**, 58～72 (1954) など.
2) 猿谷九万・安藤一夫・繁宮治夫: 本誌, **20**, 73～78 (1954).
3) J. H. MAHON and R. A. CHAPMAN: *Anal. Chem.*, **23**, 1116～1120 (1951).
4) J. H. MAHON and R. A. CHAPMAN: *Anal. Chem.*, **23**, 1120～1123 (1951).
5) C. ANGLIN, J. H. MAHON and R.A. CHAPMAN: *Agri. and Food Chem.*, **4**, 1018～1022 (1956).
6) K. KRISHNAMURTHY and M. SWAMINATHAN: *Current Science* (India), **25**, 16～17 (1956).
7) K. B. WHETSEL, W. E. ROBERSON, and F.E. JOHNSON: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **32**, 493～497 (1955).
8) K. WHETSEL, M. KRELL, and F. E. JOHNSON: *Agri. and Food Chem.*, **5**, 602～604 (1957).
9) J. BALTES: *Fette Seifen Anstrichmittel*, **56**, 484～490 (1954).
10) J. BALTES: *Fette Seifen Anstrichmittel*, **57**, 656～660 (1955).
11) L. C. MITCHELL: *J. Assoc. of Offic. Agri. Chemists*, **40**, 909～915 (1957).
12) FAHRION: *Z. Ang.*, **4**, 540 (1891).
13) C. H. LEA: *J. Soc. Chem. Ind.*, **65 T**, 286～291 (1946).
14) J. J. AUSTIN: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **31**, 424～427 (1954).
15) 森　高次郎・秦　満夫: 本誌, **15**, 407～411 (1949).
16) J. H. MAHON and R. A. CHAPMAN: *Anal. Chem.*, **26**, 1195～1198 (1954).

塗料原料とする魚油塩素化物の製造に関する研究—V.
塩素の通気速度について

鈴 木 康 策

(1959 年 4 月 27 日受理)

PREPARATION OF A COATING MATERIAL BY CHLORINATION OF FISH OIL—V.
AERATION VELOCITY OF CHLORINE

Kosaku SUZUKI*

Relations among the rate of chlorine aeration, yields of the products and agitation of reaction mixtures were studied under the assumption that the apparent chlorination velocity of fish oil is proportional to yield velocity of the products.

As the apparent velocity of chlorination proved to agree with two equations, that is, with Equation (2) at the earlier step of the reaction and with Equation (1) at the later, aeration of chlorine is necessitated to be vigorous at first and gentle later so that little excess of chlorine may get out of the reaction liquid.

So far as the present experiment is concerned, agitation of reaction liquid is not effective enough to accelerate the chlorination probably for the reason that the real reaction occurs only in the boundary film between chlorine and oil, in which no convection goes on.

ま え が き

魚油の四塩化炭素溶液に塩素を通気して塩素化を行う時は，通気によつて，塩素の供給と同時に，攪拌が行われるので，適当な通気速度を決めるには，攪拌の影響をも検討しなければならない。

この塩素化反応は魚油の溶液と塩素ガスとの異相系反応ではなく，塩素もまず魚油溶液中に溶けて，液相均一系において行われるものと見るべきである。反応速度の大小は溶液中の塩素，魚油の両方の濃度に依存するが，本反応では塩素が絶えず系外から供給されるので，反応中塩素濃度は常に飽和に保たれ，減少しないものと見てよい。したがつて魚油濃度の減少のみが反応速度の減少をきたす原因となる。元来，魚油は多種成分の混合物であり，塩素化反応にあづかる成分も一種ばかりではないが，魚油全体の塩素化生成物が本製造の目的物であるから，これら反応系成分の最初の量および反応量を成分の種類にこだわらず一括してそれぞれ a, x' とすれば，反応速度は

$$dx'/dt \propto (a-x')$$

となる。ところで，本反応では途中，x' や $(a-x')$ を測定することはできないから，上式を実験に用いるわけには行かない。この実験で測定し，かつ収得できるのは反応液から溶剤その他揮発成分を加熱除去した残留物で，これは反応系，生成系の混合物であるが，この混合物が目的物であるから，その重量を便宜上収量ということにする。塩素化反応が完了する前および完了した時のこのような収量をそれぞれ x, x_E とすれば，

$$(x_E-x) \propto (a-x')$$

と考えられるから

* 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish., Minato-ku, Tokyo, Japan).

$$dx/dt = K_1(x_E - x), \qquad K_1 = \text{const.} \tag{1}$$

となる。この左辺は勿論反応速度ではないが，それに比例するものであるから，(1) 式が成立つ，正しくは収量の増加速度というべきものであるが，実測可能な x_E, x から求めえるから，(1) 式によつて見かけの反応速度と塩素通気速度との関係を検討することができる。

実　　験

1. 塩素の通気速度について

Table 1 の魚油を Table 2 の条件で塩素化し，つぎに沸騰水浴上，減圧 (1.0～1.5 cm Hg) で揮発分を除去してえた残留物を生成物収量 ((1) 式の x) として反応時間との関係を求めたが，その結果は Fig. 1 のように，(1) 式にしたがうのは反応の後期であり，前期は

Table 1. Some properties of sample oils used in the experiment of Fig. 1.

Sample	Acid value	Iodine value	Sap. value	Unsaponifiable matters
A. Shark oil	3.1	126.1	162.7	3.8%
B. Sword fish oil	3.0	112.3	196.0	—

Table 2. Conditions of the chlorination in Fig. 1.

Sample: Kind	Sample: Weight used	Carbontetrachloride	Aeration velocity of chlorine
A. Oil of Table 1	8.0g.	24cc	30cc/min.
B. 〃	10.0 〃	30 〃	45 〃

Chlorination was carried out on the water bath standing at 50°C (± 0.5).

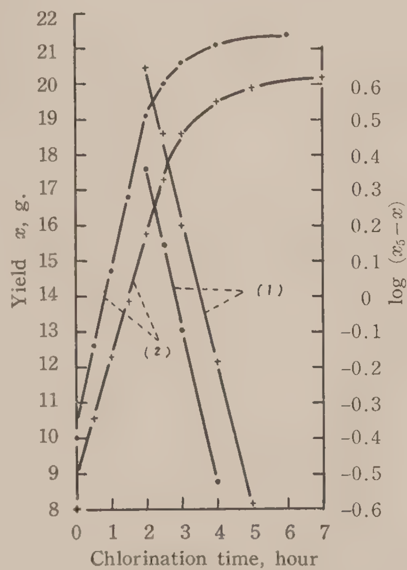


Fig. 1. Reration between chlorination time and yield.
+····Sample A of Table 1.
●····Sample B of Table 1.
(1)····Equation (1)
(2)····Equation (2)

$$dx/dt = K_2, \quad K_2 = \text{const.} \tag{2}$$

にしたがう。ただし，(1) 式，(2) 式とも実験には積分したものを使うので，それを図示した。反応の初期の間は塩素の通気速度を変えない限り見かけの反応速度は一定である。これは通気速度に比例するように察せられる。もしそうなら，たとえば，反応 1.5 時間の時は図に見られるように，(2) 式の反応であるから，その収量は通気速度に比例する筈である。Table 1 の A 油を用いてこれを実験した結果を Fig. 2 に示す。それによると通気速度 30 cc/min. 以下では比例関係が観察されるが，50 cc/min. の場合は収量が計算量 (図の点線) より少い。これは通気速度 50 cc/min., 1.5 時間という反応条件は (2) 式の段階以後に当り，既に (1) 式に属しているためであると解釈される。この段階では塩素ガスの黄緑色が液面上に見られて，供給塩素の一部が反応にあづかることなく逃げ去つてしまうこと (浪費) が明白であつた。つまり塩素通気速度の増大によつて見かけの反応速度を増

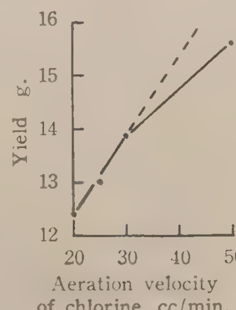


Fig. 2. Aeration velocity of chlorine and yield after 1.5 hours reaction (Initial weight of oil was 8.0 g.)

大することができるのは反応初期の (2) 式にしたがう間だけで，(1) 式の段階になると，むやみに通気速度を大にしても塩素の浪費を増すだけである。

Fig. 1 の A 油の場合は反応 2.5 時間以後は (1) 式の反応である。よつてさらに 1.5 時間だけ種々の速度で塩素を通気して塩素化を続け，計 4 時間反応後の収量を求めれば，Table 3 のようになる。これによると，反応 2.5 時間で通気を止め，そのまま 1.5 時間放置した場合の収量は 17.30g で，Fig. 1 の反応 2.5 時間の場合の収量と同じであり，放置した 1.5 時間の間に塩素化が全く行われない，つまり，反応 2.5 時間の時は未反応の塩素が液中に全く溶存していないことを示すものである。換言すれば，反応が (2) 式にしたがう間は供給された全塩素が直ちに反応してしまうのであり，通気速度が本反応の見かけの律速条件となる。次の 1.5 時間の反応における通気速度を 10cc/min., 20cc/min. に増大すれば収量も増加するが，それ以上にしても，もはや収量は増加しない。これは塩素化がすでに完了しているためではない。何故なら，Fig. 1 に示したように塩素化完了時の収量は 20.2g であり，Table 3 の 19.54g という収量はそれに達していないからである。すなわち，この場合は塩素の通気速度を 20cc/min. 以上に増加しても，塩素の浪費に終るだけで見かけの反応速度は少しも増加しないのである。

Table 3. Aeration velocity of chlorine responsible for the yield in later course of chlorination.

Aeration velocity of chlorine during the first 2.5 hours	Aeration velocity of chlorine during the following 1.5 hours	Yield after 4 hours reaction
30cc/min.	0cc/min.	17.30g.
30 〃	10 〃	19.25 〃
30 〃	20 〃	19.54 〃
30 〃	30 〃	19.53 〃

A-oil in Table 1 was used as samples by 8.0g.

Table 4. Effect of agitation on the yield of chlorination product.

Reaction time	Yield	With (+) or without (−) agitation at 440 r. p. m.
2 hours	15.75 g.	−
2 〃	15.70 〃	−
2 〃	15.70 〃	+
2 〃	15.71 〃	+
3.5 〃	19.10 〃	−
3.5 〃	19.00 〃	−
3.5 〃	18.96 〃	+*
3.5 〃	19.00 〃	+*
3.5 〃	19.18 〃	+*

* agitated only during last 1.5 hours.
A-oil in Table 1 was used as samples by 8.0g.
Aeration velocity of chlorine····30cc/min.

2. 攪拌効果について

反応が (2) 式にしたがう段階と (1) 式にしたがう段階に分けて，反応液攪拌の効果を調べる。Fig. 1，A 油の場合を見ると，反応 2 時間はまだ (2) 式の段階で，3.5 時間後は (1) 式の段階にある。それで Fig. 1 の場合と同じようにして反応を 2 時間行い，この間絶えず攪拌した場合，しない場合の収量を求めると，Table 4 上段のように両者間に差違を認め難い。したがつて，つぎに反応を 3.5 時間行つた場合は，はじめの 2 時間は攪拌せず，つぎの 1.5 時間のみ，攪拌をし，あるいはしないで収量を比較した。Table 4 の下段がその結果であるが，やはり両者間に差違は見られない。結局，塩素化反応の全過程を通じて，反応液をかきまぜても効果のないことが判明した。なお，この実験における通気速度のバッブリングは緩除なもので，できるだけ液の容器の端から行い，バッブリングによる攪拌がなるべく液全体におよばぬように注意した。一方，実験に使用した 440r.p.m. の機械的攪拌の方は極めて激しいものである。

考　　察

魚油の四塩化炭素液に塩素を通じる時，二重境膜説[1] にしたがえば，接触面における両成分の濃度傾斜は最初 Fig. 3，A のような状態にある。塩素と魚油はそれぞれ FF_g，FF_l の境膜を作りながら F 面で接触し，この境膜内は対流が起こらず，それぞれの成分は専ら拡散によつて移動すると考える。さて，魚油は $F_l \to F$ へと拡散し，塩素は $F_g \to F$ へと拡散して F で液中に溶解するや直ちに塩素化反応が完了し，生成物は反対に $F \to F_l$ へと拡散によつて去る。このようにして反応が継続するが，両成分が接触面 F へ向

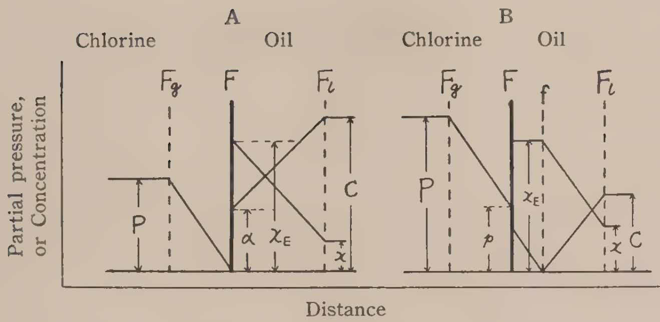


Fig. 3. Double film of chlorine and oil at the boundary between them.

つて拡散する速度は塩素の分圧 P, 魚油の F_l, F における濃度差すなわち図の $(C-\alpha)$ に比例する。P は終始一定であるが，反応初期では C が大であるから，魚油成分の拡散速度は塩素に比べて相対的に大きいと考えられる。つまり，F 面には塩素に対する反応当量以上の魚油成分が拡散して行き，その結果，F における塩素濃度は常に 0 であるが，魚油の方は多少の濃度 α で残存していることになる。すなわち塩素が不足している状態であるから，これを供給しさえすれば反応が進行する。故にこの状態では塩素の通気速度が反応の律速条件となるわけである。ただし，通気速度は塩素の $F_g \rightarrow F$ への拡散速度が限度である。反応が進行し，C は次第に減少するから，魚油成分の $F_l \rightarrow F$ への拡散速度も減少するが，塩素の拡散速度は変らないから，やがて $\alpha=0$ になる。(2) 式の反応はこの時まで続く。こうなるまでは F より右側（液相内）では未反応の塩素は溶存（残存）しえないから，塩素通気を中止すれば，反応液を放置しておいても塩素化は全く行われない。(Table 3 の第 1 行の収量 17.30g は Fig. 1 の反応 2.5 時間における収量と同じである。前者は通気 2.5 時間後，通気中止してそのまま 1.5 時間放置した場合，後者は通気 2.5 時間後，直ちに溶剤留去した場合)。反応がさらに進行すると，魚油の $F_l \rightarrow F$ への拡散は益々遅くなり，P は変らないから，F 面における両成分の割合は前とは逆に塩素の方が魚油に対する反応当量以上になる。この時は塩素は F 面において多少の分圧 P を残存し，これに応じてさらに液相に溶解し $F \rightarrow F_l$ へ向つて拡散して行き，他方，$F_l \rightarrow F$ に拡散する魚油成分と途中 f で出会い，ここで反応する。Ff 間には生成物が飽和し，また塩素が幾分溶存している。p は液中の飽和濃度に対応する圧力まで増大するが，それ以上塩素通気速度を大にしても反応系外に逃げ去り浪費となるだけである。かくして反応面 f へ拡散する速度は塩素の方は一定となり，魚油の方は C の減少に応じて減少するから，この拡散速度が反応の律速条件となる。反応の初期も後期も本実験の規模では攪拌効果がなかつたが，反応面が境膜内にあり，対流作用がおよばないこともその原因であろう。

要　　約

塩素化反応の見かけの速度を考慮して，収量，通気速度，通気時間等について実験した結果，塩素通気速度は反応液面上に過剰な塩素が逃げ去る程度を以て限度とすべきであり，通気中特にかくはんする必要を認めなかつた。

終りに御指導を仰いだ東京工業大学舟木教授に対し厚く御礼申上げます。

文　　献

1) LEWIS WHITMAN: *Ind. Eng. Chem.*, **16**, 1215 (1924).

淡水産二枚貝組織の呼吸代謝について*

東　　　怜・河 合 清 三

(1959 年 4 月 27 日受理)

THE RESPIRATORY METABOLISM OF THE TISSUES OF FRESH-WATER MUSSELS

Satoru HIGASHI and Kiyozo KAWAI**

The cellular respiration of fresh-water mussels, *Hyriopsis schlegelii* and *Cristaria plicata*, was studied from some comparative aspects of physiological chemistry. The former species, which is used as the mother-mussel in the fresh-water pearl-culture industry, is endemic to the Lake of Biwa, but the latter is a common species in lakes and ponds of Japan. Anatomically, both of them are very similar to the genera *Unio* and *Anodonta*. The experiments were carried out during winter to early spring. The materials used were about 14~17 cm. in shell length, and about 4~6 years old. The results obtained are summarized as follows:

1. The gill showed the highest rate of endogenous respiration among various tissues of the mussels (Table 1).

2. The endogenous respiration of the gill was strongly inhibited by cyanide and azide, and the inhibited respiration was recovered by addition of methylene blue (Fig. 1 and Table 2).

3. The respiration of mussel tissues was accelerated by 10^{-3} M~10^{-2} M of succinate, and this effect was especially remarkable on the heart and the adductor muscle. In the striated portion of the adductor muscle, the effect of succinate was twice as much as in the smooth portion. No accelerating effect was observed with 10^{-2} M of pyruvate, citrate, α-ketoglutarate and glutamate.

4. Although the endogenous respiration of mussel tissues was not inhibited by malonate, the accelerating effect of succinate was strongly depressed by malonate (Table 3 and Fig. 2).

緒　　言

水棲の無脊椎動物の細胞呼吸については，近年海産の二枚貝[1)2)3)4)5)6)]，ウニ卵など[7)]についてかなりの知見が得られているが，淡水産の貝類については，まだほとんど研究されていない。

淡水真珠の養殖は，わが国の真珠養殖産業全体から見れば，その産額はそれほど大きくはないが，琵琶湖のような大湖沼の沿岸産業としては無視できないものであろう。しかし，母貝に使用されているイケチョウガイは海産真珠貝のアコヤガイと異なり，核を入れるときの手術に対して抵抗力が小さく，特に夏期に死亡しやすいことなどが，淡水真珠養殖の技術面での最大の難点のようである。

本研究は淡水産二枚貝の細胞呼吸について，比較生理学的興味から始めたものであるが，他面淡水真珠の養殖技術の背景となる母貝の生理的基礎資料を得ることをも一つの目的として行つたものである。材料のイケチョウガイの分布は琵琶湖水系に限定されており，得られた実験結果が淡水産二枚貝一般のものとどれほどの共通面があるか判定しがたいので，淡水域に広く分布しているカラスガイをも用いて比較検討した。

---

* 京都大学大津臨湖実験所研究業績第 151 号

** 京都大学理学部動物学教室 (Dept. Zoo., Univ. Kyoto, Japan).

実験材料および方法

イケチョウガイ *Hyriopsis schlegelii*, カラスガイ *Cristaria plicata* は滋賀県瀬田川漁業組合より入手した殻長約 16 cm, 殻高 10 cm 前後のものを用いた。年令は両者とも 4〜6 年である。材料は現場より持ち帰つたのち，井戸水の環流する水槽中で飼育し，できるだけはやく実験に使つた。実験はいづれも冬から早春にかけて採集した試料について行つた。

組織呼吸の測定には WARBURG の検圧装置を用いて 25°C で行い，反応フラスコには全容約 10 m*l* の側室つきのものを使つた。組織浮遊液には淡水産二枚貝用生理塩液 (NaCl 1.2 g, KCl 0.15 g, $CaCl_2$ 0.15g, 水 1 *l*.[8]) 100 m*l* に対し 0.1 M 燐酸緩衝液 (pH 7.2) 2 m*l* を加えたものを用いた。炭酸ガス吸収剤として中央井戸に 0.5 M KOH を 0.2 m*l* 入れ，沪紙片を差し入れた。青酸阻害の実験の場合には，この KOH 液の代りに，ROBBIE の KCN–KOH 混液[9] を中央井戸に入れた。

組織片は貝体から切り出した後，沪紙で附着している水分を除き，えらは数本のえら糸片に分け，他の組織は安全カミソリ刃でうすい切片にする。この組織片を手ばやくトーションバランスで秤量し，反応フラスコ 1 個当り，50〜200 mg の組織片を入れた。

実 験 結 果

1. 各種組織の内部呼吸量

イケチョウガイおよびカラスガイの各種組織の酸素消費量の測定結果を Table 1 に示す。酸素消費量は Qo_2 (μl. O_2/mg 乾燥重量/時間) ならびに RO_2 (μl. O_2/100 mg 生組織/時間) で示す。水分含有量は常法により 105°C で数時間乾燥し，その減量より算出した。

組織呼吸の測定に用いた各種組織はえら，外とう膜，心臓，閉殻筋であるが，組織構造および機能の点から外とう膜は更に周縁部と薄膜部に分け，また閉殻筋は横紋筋部と平滑筋部に分けて測定した (Table 1)。

イケチョウガイ，カラスガイともに諸組織中えらの酸素消費量が最も大きく，ついで心臓，外とう膜周縁部，同薄膜部，閉殻筋の順になつている。カラスガイのこれらの酸素消費量はイケチョウガイよりかなり大

Table 1. Oxygen consumption of different tissues of fresh-water mussels*

Animal	Tissue	No. of determinations	Qo_2	RO_2**	Water content %
Hyriopsis schlegelii	Gill	24	−1.3	−19	83.5
	Mantle edge	8	−0.6	− 7	88.1
	Mantle lobe	8	−0.5	− 7	85.4
	Heart	10	−0.8	− 8	89.7
	Adductor muscle				
	striated m.	6	−0.19	−3.0	84.0
	smooth m.	6	−0.19	−3.0	84.0
Cristaria plicata	Gill	10	−1.8	−30	83.0
	Mantle edge	6	−0.7	− 7	88.8
	Mantle lobe	6	−0.5	− 8	85.1
	Heart	5	−0.8	− 7	90.1
	Adductor muscle				
	striated m.	4	−0.14	−2.5	83.3
	smooth m.	4	−0.14	−2.5	83.2

* The oxygen consumption was determined on the tissue pieces in a physiological solution for the fresh-water mussels, using the Warburg manometers at 25°C.

** O_2 μl./100mg. fresh tissue/hr.

Table 2. Effect of respiratory inhibitors on the gill of fresh-water mussels.

Animal	Chemicals	Concentration M	Inhibition (−) or acceleration (+) %	No. of experiments
Hyriopsis schlegelii	Cyanide	5×10^{-4}	− 51	5
	Cyanide + Methylene blue	5×10^{-4} / 10^{-4}	− 48	4
	Cyanide + Methylene blue	5×10^{-4} / 10^{-3}	+ 32	4
	Methylene blue	10^{-4}	+ 33	2
	Methylene blue	10^{-3}	+123	2
	Azide	10^{-3}	− 10	3
	〃	10^{-2}	− 53	3
	Azide + Methylene blue	10^{-2} / 10^{-3}	+ 43	3
	Malonate	10^{-2}	+ 6	5
Cristaria plicata	Cyanide	5×10^{-4}	− 59	4
	Cyanide + Methylene blue	5×10^{-4} / 10^{-3}	+ 9	4
	Methylene blue	10^{-3}	+ 76	2
	Azide	10^{-3}	− 11	3
	〃	10^{-2}	− 52	3
	Azide + Methylene blue	10^{-2} / 10^{-3}	+ 14	3

Duration of experiment, 80 min.

きい値を示すが，他の組織では差は認められない。また，閉殻筋の横紋筋部と平滑筋部ではその内部呼吸に差は見られない。なお，これらの貝の内部呼吸はかなり安定なもので，切り出した組織片を生理塩液につけ，20 時間 10°C 前後の室温に放置しておいてもその呼吸量には変化を来たさない。

2. 組織呼吸におよぼす代謝阻害剤の影響

これら二枚貝の組織の好気的代謝の機構の大要を知るために酸素消費量の一番大きいえら組織を材料にして，青酸，アザイド，マロン酸による阻害実験を試みた (Table 2)。

(1) 青酸阻害

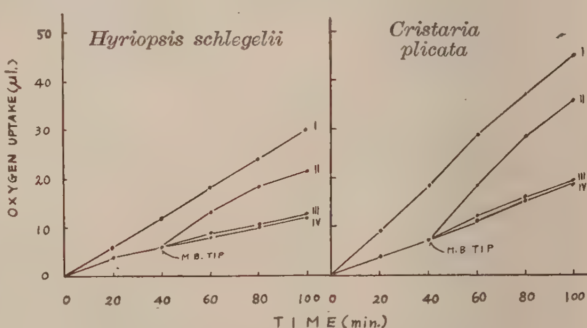


Fig. 1. Effects of cyanide and methylene blue on oxygen uptake of the gill of fresh-water mussels.

I, control; II, 5×10^{-4}M cyanide + 10^{-3}M methylene blue; III, 5×10^{-4}M cyanide + 10^{-4}M methylene blue; IV, 5×10^{-4}M cyanide. Each manometric flask contained 100 mg gill pieces in 1.5 m*l*. of mussel physiological solution. Temperature 25°C. Methylene blue was added to the main vessel from the side-arm at t=40.

イケチョウガイおよびカラスガイのえらの呼吸は，5×10^{-4} M の青酸によつて 50% から 60% 前後抑制される。阻害をうけたえら組織に

Table 3. Effects of succinate and malonate on the respiration of different tissues of fresh-water mussels.

Animal	Tissue	Percent increase of O_2 consumption over control			
		Succinate 10^{-3} M	Succinate 5×10^{-3} M	Succinate 10^{-2} M	Malonate 10^{-2} M + Succ. 5×10^{-3} or 10^{-2} M
Hyriopsis schlegelii	Gill	0	5	20	0 Succ. 10^{-2} M
	Mantle edge	—	26	82	—
	Mantle lobe	—	28	95	—
	Adductor muscle				
	striated m.	70	230	395	—
	smooth m.	20	100	164	—
	Heart	—	1150	1125	141 Succ. 5×10^{-3} M
Cristaria plicata	Gill	2	16	29	12 Succ. 10^{-2} M
	Mantle edge	—	12	54	—
	Mantle lobe	—	4	30	—
	Adductor muscle				
	striated m.	60	340	380	58 Succ. 10^{-2} M
	smooth m.	20	140	180	21 〃
	Heart	—	785	780	64 Succ. 5×10^{-3} M

Duration of experiment, 80 min.

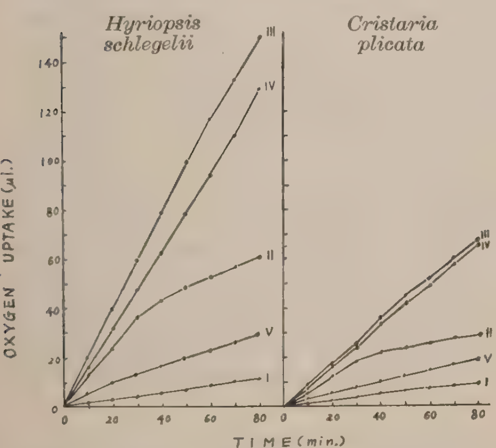


Fig. 2. Effects of succinate and malonate on oxygen uptake of the heart of fresh-water mussels.

I, control; II, 10^{-3}M succinate; III, 5×10^{-3}M succinate; IV, 10^{-2}M succinate; V, 5×10^{-3}M succinate + 10^{-2}M malonate. Each manometric flask contained 100 mg. tissue in 1.5 m*l*. of mussel physiological solution. T. 25°C. Succinate and malonate were added to the main vessel from the side-arm at $t=0$.

10^{-4} M のメチレン青を作用さすと呼吸の回復がみられる。阻害実験の時間的経過の一例を示すと Fig. 1 のようになる。

(2) アザイドによる阻害

周知のようにアザイドは青酸と同じく重金属酵素を阻害する。イケチョウガイおよカラスガイのえらの内部呼吸は，10^{-2} M のアザイドで50%前後阻害される。この阻害も青酸の場合と同様，10^{-4} M 以上のメチレン青によりほとんど完全に回復する (Table 2)。

(3) マロン酸による阻害

イケチョウガイのえらの内部呼吸は，5×10^{-2} M, 10^{-2} M のマロン酸では阻害をうけないばかりでなく，逆にごくわずか（6%）促進される (Table 2)。

3. 組織呼吸に対する呼吸基質の影響

各組織とも 10^{-3}～10^{-2} M のコハク酸の添加によつて呼吸が高まるが，クエン酸，ピルビン酸，α-ケトグルタール酸（いずれも 10^{-2} M）では全く影響は認められなかつたのでコハク酸についての実験結果だけを Table 3 に示す。

これらの実験結果のうち興味のあるのは，閉殻筋と心臓の場合である。10^{-2} M のコハク酸によつて閉殻筋の横紋筋部の呼吸は 4 倍近く増加するが，平

滑筋のそれは 1.7 倍前後しか増加しない。また，心臓ではコハク酸の影響は特に著しく，$5\times10^{-3}\sim10^{-2}$M の濃度で，イケチョウガイは約 11 倍カラスガイは 8 倍近く呼吸が促進される。Fig. 2 にその一例を示す。なお，10^{-3}M では，コハク酸添加後 30 分間はかなりの効果が見られるが，それ以後急激に減少し，40 分後には全く効果は認められなくなる。また，これらのコハク酸の影響は，いずれの組織でも 5×10^{-3}M～10^{-2}M のマロン酸の添加によつて強く阻止される。

考　　察

イケチョウガイならびにカラスガイの各種組織の酸素消費量を比較すると，えら組織が最も大きく，ついで心臓，外とう膜周縁部，同薄膜部，閉殻筋の順になつている。この傾向は海産，淡水産に関係なく，二枚貝類一般に共通のようで，アコヤガイ[4]，カキ[6] の場合とも大体一致している。しかし，酸素消費量それ自体は海産のものに比べかなり小さく，その値の比較的大きいえら組織ですら，海産のものの約 2 分の 1 にしかすぎない。イケチョウガイとカラスガイとを比べてみると，後者のえらの酸素消費量は前者のそれより若干大きいが，他の組織では別に差は認められない。

イケチョウガイのえらは外囲の水中から Ca^{++} を活溌に吸収することが最近 Ca^{45} を使つた実験で明らかにされている[10]。また，このえらには，生体内の酸塩基平衡に重要な役割を果し，ひいてはイオンの移動に関与する炭酸脱水素酵素が多量存在することが，著者の 1 人河合によつて明らかにされている[11]。沼野井[12]によると，カラスガイのえらには多量のカルシウムが存在し，えらはガス交換以外に，カルシウムの貯蔵組織としての機能をも持つているとのことである。

このような部分の組織呼吸が相対的に高いということは興味深い。えら組織の外囲の水中からの Ca^{++} の吸収は単なる物理学的な滲透ではなく，いわゆる active transport によるものと想像される。そして，この部位の相対的に高い呼吸は，えら上皮の活溌なせん毛運動に必要なエネルギーの生成に関与するばかりでなく，この組織の Ca^{++} 吸収にも関係しているものと思われる。

Table 2 に見られるように，これら二枚貝のえら組織の呼吸は，重金属と Complex を形成する青酸，アザイドによつて強く抑制される。したがつて，その酸化的代謝には重金属酵素が重要な役割を果しているものと考えられる。

高等動物の細胞呼吸にはコハク酸，クエン酸のようなジカルボン酸あるいはトリカルボン酸が重要な働きをすることが知られているが，これら二枚貝の組織呼吸に著しく影響するのはコハク酸の場合だけで，クエン酸，α-ケトグルタール酸などでは明確な促進効果はえられなかつた。閉殻筋は横紋筋部と平滑筋部の 2 部分より構成されているが，その内部呼吸には差が見られない。しかし，10^{-2}M のコハク酸を作用さすと横紋筋部の方が平滑筋部よりはるかに強く呼吸が促進される。閉殻筋の横紋筋部は貝がらの開閉運動に関係し，平滑筋部はもつぱら貝がらを閉じる働きをするといわれている[13]。カキの閉殻筋では解糖作用の強さは横紋筋部の方が平滑筋部よりかなり大きいとのことである[14]。このような部位が有機酸代謝の面でも差を示すことは興味深い。

心臓の場合，コハク酸の影響はきわめて著しく，酸素消費量が 10 倍前後促進される。この結果は，心臓組織のコハク酸代謝能力がすこぶる大きいこと，すなわち，コハク酸酸化系の酵素活性がきわめて大きいことを示すものといえよう。なお，心臓では，組織の透過性も無視できないであろう。心臓は他の組織と異り，常に囲心腔液で浸されており，呼吸基質となるような栄養物質をたえず囲心腔液中より吸収しているものと考えられ，その物質透過性はえら，外とう膜などの組織よりはるかに大きいものと想像される。

上述のようなコハク酸の呼吸促進作用は，コハク酸脱水素酵素に対してかなり特異的に作用するマロン酸の添加によつて強く阻止されるので，これら二枚貝組織のコハク酸の酸化径路にはコハク酸脱水素酵素が介在しているものと推定される。

要　　約

1．イケチョガイ，カラスガイの各種組識の内部呼吸量 RO_2 ($O_2\,\mu l$/100 mg 生組織/時間) を比較するとえら組織の値が最も大きく，イケチョウガイのえらの RO_2 は約 19 で，カラスガイのそれは約 30 である。外とう膜，閉殻筋，心臓などの呼吸量は非常に小さい。カラスガイのえらの呼吸量はイケチョウガイのそれより大きいが，他の組織では差はみられない。

2．えら組織の呼吸は，青酸，アザイドにより強く阻害され，メチレン青の添加によりその阻害は除去される。

3．5×10^{-3}～10^{-2} M のコハク酸により，いずれの組織でもその呼吸は増加するが，クエン酸，ピルビン酸，α-ケトグルタール酸，グルタミン酸では影響をうけない。閉殻筋や心臓ではコハク酸による促進効果が特に著しく，閉殻筋では横紋筋部の方が平滑筋部よりその促進効果が大きい。

4．各種組織の内部呼吸は，マロン酸により阻害されないが，コハク酸によつて促進された呼吸は強く阻止される。

5．以上の諸実験結果から，これら二枚貝の細胞呼吸には重金属酵素が重要な役割を果しているものと考えられ，またコハク酸の酸化径路にコハク酸脱水素酵素が介在しているものと推定される。

終りに，研究上種々御便宜を与えられた京大理学部宮地伝三郎教授ならびに中村健児教授に厚く御礼申上げる。

文　　献

1) Humphrey, G.F.: J. Exp. Biol., **24**, 352 (1947).
2) Jodrey, L.H. and Wilbur, K.M.: Biol. Bull., **108**, 346 (1955).
3) 河合清三: 生化学, **28**, 379 (1956).
4) 河合清三: 本誌, **22**, 626 (1957).
5) 河合清三: 本誌, **23**, 738 (1958).
6) Kawai, K.: Biol. Bull. **117** (1959).
7) Cleland, K.W. and Rothschild, Lord.: J. Exp. Biol., **29**, 416 (1952).
8) Motley, H.L.: Physiol. Zool., **8**, 62 (1934).
9) Robbie, W.K.: J. Cell. Comp. Physiol., **27**, 181 (1946).
10) 堀口吉重: 本誌, **23**, 710 (1958).
11) 河合清三: 日本貝類学雑誌, **19**, 39 (1954).
12) Numanoi, H.: Jap. J. Zool., **8**, 353 (1939).
13) 高槻俊一: 牡蠣, 技報堂 (1949).
14) Humphrey, G.F.: Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci., **28**, 151 (1950).

組織中のテトラサイクリンおよびオキシテトラサイクリンの簡易定量法*

富山哲夫・大山重信

(1959年4月27日受理)

A PRACTICAL ASSAY METHOD FOR DETERMINATION OF TETRACYCLINE AND OXYTETRACYCLINE IN TISSUES

Tetuo TOMIYAMA and Shigenobu ŌYAMA**

TOMIYAMA et al[3] reported a practical assay method appropriate for the determination of minute amount of chlortetracycline (CTC) in tissues. The present study deals with the application of their method to the determination of tetracycline (TC) and oxytetracycline (OTC) in tissues.

It was found that the method could be applied for this purpose by only modifying the standard antibiotics solutions. The average recoveries of TC or OTC which was included in tissues were found 88% from muscle and 96% from skin. The minimum inhibitory concentration of TC or OTC was 0.006 mcg per cc., i.e., a detectable amount of OTC in tissues being 0.03 mcg per g. of tissue when one part of a sample tissue is extracted with four parts of the extractant. It was shown that the preparation of the standard curve at each determination could be omitted by employing the linear regression line just as in the case of CTC.

The optimum condition for the sporulation of test organism, *B. cereus* #213, has also been studied, since difficulty was frequently met in obtaining a high yield of spore of the test organism while none was experienced in case of *B. cereus* #5. Several trials revealed that both a suitable cell concentration of the inoculum and a moderately thin layer of the basal medium are required for efficient sporulation of the organism.

テトラサイクリン系の抗生物質のうちで医薬品として用いられているものにはクロルテトラサイクリン(CTC と略記), オキシテトラサイクリン(OTC と略記)およびテトラサイクリン(TC と略記)があり，食品の保鮮の目的には前二者が用いられている。これら抗生物質のうちで CTC の定量法についてはすでに報告した[1,2,3]。OTC および TC の定量法としては，主として純度の検定のための方法のみであつて， OTC は化学的方法[4]，TC は microbioassay 法[4]によつている。

本報においては富山等[3]の提案した CTC の簡易 cylinder plate microbioassay 法がそのまま TC および OTC の定量に応用できるかどうかについて検討した。即ちその検定菌 *B. cereus* #213 のこれら抗生物質に対する感度，標準曲線の再現性，検定限界および回収率について検討した。その結果によると標準溶液の濃度を変えるだけで，この簡易定量法がそのまま TC および OTC の定量に応用できることが分つたので以下報告する。なお定量用の *B. cereus* #213 の胞子化がしばしば困難なことを経験したので，胞子化の条件を検討した結果をも報告する。

実験材料および定量方法

1. 研究材料

本研究に使用した TC はレダリー KK の医薬用のものであり，OTC はファイザー KK の医薬用のもの

* 本研究の大要は 1958 年 10 月に日本水産学会九州支部大会（鹿児島市）において発表した。

** 九州大学農学部水産化学教室 (Lab. Fish. Chem. Fac. Agr. Kyushu Univ.).

を用いた。検定菌 *B. cereus* #213 は American Cyanamid Co. の Princeton Laboratory の ABBEY 氏より分与されたものである。研究に使用した魚類の内，コイは活魚を用い，他の魚類はいずれも市場より求めたものである。

2. 定量方法

つぎに示す標準液の濃度を除いては，定量用の器具，組織抽出剤，稀釈剤，検定菌種，検定培地の組成および定量の操作は前報[3]と全く同じである。なお定量値の計算には次式 (1) を用いる。

$$\text{TC or OTC, mcg/g} = D \times \text{antilog}\left(\frac{S-R}{12} - 1.301\right) \cdots\cdots (1)$$

但し　D = dilution factor. When sample tissue is extracted with the extractant four times as much as tissue weight, D must be 5.

S = zone size (mm) for sample extract.

R = zone size (mm) for reference solution (0.05 mcg/cc) of TC or OTC.

TC および OTC の標準液の調製: TC 塩酸塩或いは OTC 塩酸塩の結晶 100.0 mg を蒸溜水にとかし，100 cc に定容する。この 2 cc 宛を小型試験管に分注し，ポリエチレン膜で蓋をして凍結保存する。

この原液 2 cc から標準液の系列をつくるには，pH 5.6 の稀釈剤を用いて 100 cc とし，つぎにこの 1 cc を 100 cc にする。この液は 0.2 mcg/cc に当るので，これを順次に 2 倍ずつに稀釈して 0.2, 0.1, 0.05, 0.025 および 0.0125 mcg/cc と 5 段階をつくり，標準曲線を求めるのに用いる。各 plate 毎の阻止帯の大きさを修正するには 0.05 mcg/cc のものをあてる。

研究結果

1. 検定菌の胞子化の条件

検定菌 *B. cereus* #213 の胞子化には時々失敗を経験したので，胞子化率の向上について吟味してみた。胞子化率の測定には加熱処理で繁殖細胞を滅菌した後に，胞子のみを平板培養して測定する方法も試みてみたが，再現性のある値がえられなかつたので，位相差顕微鏡下の観察により胞子化の概略を読みとる方法によつた。その結果は Table 1 に示したように，接種菌の濃度が甚だしく稀薄な場合および濃厚な場合には 10 日間内の胞子化がいずれも不完全であつた。さらにこれよりも影響が著るしいのは Table 2 に示したように，培地の層の厚さであつて厚い場合には胞子化率が著るしく低下した。

Table 1. Change in percentage of sporulation of *B. cereus* #213 with its inoculated vegetative cell concentrations.

% light transmission (660 mμ) of inoculum suspension	% sporulation* after inoculation at 30°C. for period of			
	4-day	7-day	10-day	std. dev.
1	1	5	10	± 9.4
	1	5	10	± 9.4
4	10	40	60	± 12.9
	20	50	70	± 9.4
13	10	40	70	± 12.4
	5	10	20	± 11.5
	20	40	70	± 15.2
23.5	10	20	30	± 12.0
	20	40	70	± 10.5
	30	60	80	± 12.4
49	10	40	50	± 11.0
	20	50	70	± 9.4
67.5	10	40	70	± 10.0
	10	20	40	± 14.5
90.5	5	10	20	± 15.2
	10	—	—	

* Since the vegetative cells were found not in separated but in conjugated form, 10 to 20 countings of about ten cells were made in each microscope field, and data for several different fields were averaged.

Table 2. Effect of thickness of medium on sporulation of *B. cereus* #213.

Vol. of medium added to 400cc Roux flask	% sporulation after incubation at 30°C. for period of	
	5-day	10-day
100 cc.	0	10
	0	5
	0	5
50 cc.	50	90
	40	80
	20	70

2. CTC, TC および OTC に対する検定菌の感度

同時に作つた CTC, TC および OTC の標準曲線を Fig. 1 に示す。この図から明らかなように，検定菌の TC および OTC への感度は CTC への感度の約 1/5 であつた。また Table 3 をみると分るように pH 5.6 の移釈剤中にとけた TC および OTC の示す感度および標準曲線の勾配は，筋肉や皮の抽出液にそれぞれ同量の TC 或いは OTC を添加した場合の感度および勾配とほとんど差がみられなかつた。したがつて pH 5.6 の稀釈剤で 5 段階の濃度にとかした TC 或いは OTC の標準液によつて標準曲線を作り，これを用いて組織抽出液の濃度を決定しても誤差は起らない。

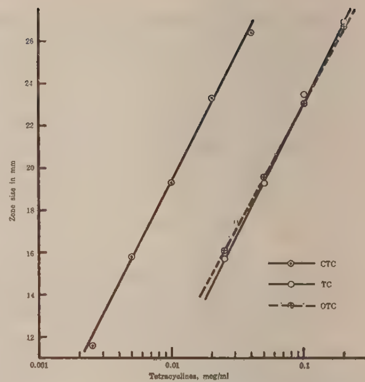


Fig. 1. Comparative susceptibility of *B. cereus* #213 to TC, OTC, and CTC.

Table 3. Zone sizes for TC and OTC with or without tissue extract.

	Spec. of fish	With or without tissues	Inhibitory zone size (mm.) at antibiotics conc. (mcg/cc) .0125	.025	.05	.1	.2	Slope of curve
TC	Carp*	with skin	—	15.5	19.5	22.8	26.6	12.1
		without	11.3	15.7	18.8	33.4	26.3	12.0
		difference		− 0.2	+ 0.7	− 0.6	+ 0.3	
		with flesh	—	15.7	18.6	22.8	26.0	12.0
		without	10.7	15.1	18.2	22.8	25.7	12.0
		difference		+ 0.6	+ 0.4	0	− 0.3	
OTC	Carp*	with skin	—	16.5	19.6	23.5	26.8	11.6
		without	11.4	15.7	19.7	23.4	26.7	12.2
		difference		+ 0.8	− 0.1	+ 0.1	+ 0.1	
		with flesh	13.4	16.4	20.3	22.9	26.5	11.2
		without	13.5	17.2	20.3	23.9	27.0	11.2
		difference	− 0.1	− 0.8	0	− 1.0	− 0.5	
	File fish†	with flesh	11.1	15.0	18.4	21.9	25.0	11.0
		without	11.0	15.2	18.6	22.2	25.6	10.8
		difference	+ 0.1	− 0.2	− 0.2	− 0.3	− 0.6	

† *Stephanolepis cirrhifer*.   * *Cyprinus carpio*.

3. 標準曲線の回帰方程式の決定および検出の最低限界

定量の度毎に標準曲線を求めることは繁雑であるだけでなく，何等かの原因で標準曲線に失敗があると，その時の定量値の計算ができなくなる。したがつて真に近い曲線を別に求めておいて，定量に当つて各 plate 毎の修正用 0.05 mcg/cc の示す阻止帯を前記の真に近い標準曲線上の 0.05 mcg/cc の阻止帯径に合致するように補正して計算すれば，誤差も少ない筈である。この企ては CTC の場合にも成功したので，TC や OTC の場合にも同様に取扱えるかを知るために，異なる日に作つた 10 箇の標準曲線を用いて回帰方程式を求めてみた。その資料は Tables 4 および 5 に示す通りで，これからつぎのような回帰方程式がえられた。

$$y - 19.0 = 12.23x \quad \cdots\cdots (2)$$

$$y - 19.8 = 11.86x \quad \cdots\cdots (3)$$

但し，(2) 式は TC, (3) 式は OTC のものである。ここに y = Inhibitory zone size in mm, $x = 1.301 + \log(\text{mcg/cc})$. TC の回帰線の勾配の 95% および 99% の信頼限界はそれぞれ 12.23 ± 0.17 および 12.23 ± 0.25, OTC の場合にはそれぞれ 11.86 ± 0.47 および 11.86 ± 0.68 となる。 2つの回帰線の勾配の差は僅少であるから，CTC の場合と同様に 12 として阻止帯径の大きさから濃度 (mcg/cc) に換算の

Table 4. Adjusted inhibitory zone sizes (mm.)* for TC standard solution.

Date / mcg. per cc.	Oct. 15	〃 16	〃 17	〃 18	〃 18	〃 23	Nov. 1	〃 3	〃 3	〃 3	Ave. ± std. dev.	Calc. from regression line
0.0125	12.1	11.9	11.7	12.0	12.2	11.4	11.2	11.3	11.3	11.2	11.63±0.39	11.6
0.025	15.8	14.7	15.9	14.9	15.8	15.6	15.0	15.4	15.3	15.2	15.36±0.42	15.3
0.05	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0
0.1	22.7	23.2	23.6	22.7	23.2	22.6	22.4	22.0	22.6	22.8	22.78±0.45	22.7
0.2	26.6	26.6	26.4	26.4	26.6	26.0	26.5	26.3	25.8	25.9	26.31±0.37	26.4
slope	11.93	12.61	12.34	12.16	12.03	12.03	12.62	12.16	12.06	12.29	12.23±0.24	

* Zone sizes (mm.) which were obtained by adjusting measured zone sizes to make measured reference zone sizes 19.0 mm.

Table 5. Adjusted inhibitory zone sizes (mm.)* for OTC standard solution.

Date / mcg. per cc.	Oct. 18	〃 23	〃 25	〃 27	〃 28	〃 31	Nov. 4	〃 5	〃 5	〃 5	Ave. ± std. dev.	Calc. from regression line
0.0125	11.9	13.4	12.3	12.6	12.3	12.6	12.5	12.0	12.4	12.1	12.41±0.42	12.6
0.025	16.9	16.6	16.5	16.1	16.8	17.1	16.5	15.4	15.9	16.5	16.43±0.51	16.2
0.05	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	19.8
0.1	23.7	23.2	23.2	23.6	23.2	23.1	23.3	23.6	23.7	23.9	23.45±0.28	23.4
0.2	27.0	26.2	25.7	27.3	26.7	26.8	26.5	27.2	27.0	27.1	26.75±0.50	26.9
slope	12.29	10.70	11.13	12.26	11.69	11.43	11.56	12.83	12.29	12.42	11.86±0.66	

* Zone sizes (mm.) which were obtained by adjusting measured zone sizes to make measured reference zone sizes 19.0 mm.

Table 6. Comparison between values for TC or OTC obtained by standard curve and regression line.

Kinds of tetracyclines	Sample tissue		Ave. zone size, reference	Ave. zone size, sample ext.	Calculated by regular std. curve (routine method)		Calculated by regression line (present method)	
			mm.	mm.	mcg/cc	mcg/g§	mcg/cc	mcg/g§
OTC	carp*	muscle	21.2	23.7	0.084	0.42	0.081	0.41
	"konosiro"††	muscle	20.2	22.7	0.082	0.41	0.081	0.41
			20.0	22.6	0.083	0.42	0.082	0.41
			19.7	15.4	0.022	0.11	0.022	0.11
		skin	20.3	23.2	0.086	0.43	0.088	0.44
			20.0	19.2	0.043	0.22	0.043	0.22
	mullet**	muscle	20.2	23.0	0.086	0.43	0.086	0.43
			20.0	22.9	0.088	0.44	0.087	0.44
			19.7	15.0	0.021	0.11	0.020	0.10
		skin	19.3	19.6	0.053	0.27	0.053	0.27
			19.3	19.8	0.055	0.28	0.055	0.28
TC	carp	muscle	20.8	23.3	0.080	0.40	0.081	0.41
	"konosiro"††	muscle	20.6	23.9	0.096	0.48	0.094	0.47
			18.6	21.8	0.094	0.47	0.092	0.46
			18.8	14.4	0.022	0.11	0.021	0.11
		skin	19.0	22.3	0.090	0.45	0.094	0.47
			19.5	19.7	0.051	0.26	0.052	0.26
	mullet**	muscle	20.6	23.4	0.087	0.44	0.086	0.43
			18.6	21.2	0.082	0.41	0.082	0.41
			18.8	14.3	0.021	0.11	0.021	0.11
		skin	19.5	19.3	0.048	0.24	0.048	0.24
			19.5	18.9	0.044	0.22	0.045	0.23

§ tissue : extractant = 1 : 4   * *Cyprinus carpio.*   ** *Mugil cephalus.*
†† *Konosirus punctatus.*

ための略算式を求めると次式 (4) がえられる。

$$C = \text{antilog}\left(\frac{S-R}{12} - 1.301\right) \cdots\cdots\cdots\cdots (4)$$

但し，C = mcg/cc, S = zone size (mm) of sample extract, R = zone size (mm) of reference solution (0.05 mcg/cc) of TC or OTC.

実際に測定した阻止帯経の値から上式 (4) によつて計算した結果とそれぞれの定量の時に設けた標準曲線を用いて計算した結果とを対比すると Table 6 にみられるように，よく一致している。それ故に測定の都度，標準曲線をつくらなくとも，予め阻止帯経と濃度との関係を示す回帰直線或いは方程式を作つておけば定量値への換算ができる。

次に上記の回帰直線を外挿して検定の最低限界値を求めてみると，いずれも 0.006 mcg/cc となり，組織 1 を抽出剤 4 で抽出した場合には，組織中の検定限界濃度はいずれも 0.03 mcg/cc となる。勿論この限界値では定量の誤差は著るしく大きいが，本抽出剤を用いると山崎氏等の方法[6] のように低濃度範囲が直線から偏倚することはないので，定量限界附近の低濃度を回帰方程式から求めた値の信頼性は高い。但しこの限界値はガラス板に流した寒天の厚さによつて変動することは注意すべきである。しかしあまり薄い層の培地を用いるとガラス板の位置による不均一が大きくなり，また均一の培地を流し難いので，誤差が大きくなる。

Table 7. Recovery of TC and OTC from tissues to which known amounts of the antibiotics were added.

Sample tissue		included	OTC reco-vered	OTC recovery	OTC ave.	TC reco-vered	TC recovery	TC ave.
		mcg/g	mcg/g	%	%	mcg/g	%	%
"Konosiro"	muscle	0.500	0.410	82		0.480	96	
			0.490	98	88	0.470	94	94
			0.415	83		0.470	94	
		0.125	0.095	76				
			0.105	84	84	0.118	94	89
			0.110	88		0.110	88	
			0.108	86		0.108	86	
	skin	0.500	0.430	86		0.480	96	
			0.500	100	91	0.490	98	97
			0.440	88		0.455	91	
		0.250	0.215	86		0.260	104	
			0.250	100	95	0.250	100	102
			0.250	100		0.255	102	
Mullet	muscle	0.500	0.430	86		0.435	87	
			0.470	94	89	0.470	94	88
			0.440	88		0.410	82	
		0.125	0.095	76				
			0.103	82	81	0.105	84	
			0.103	82		0.105	84	84
			0.103	82		0.105	84	
	skin	0.250	0.250	100		0.250	100	
			0.265	106	105	0.240	96	95
			0.275	110		0.220	88	
Carp	muscle	0.500	0.420	84				
			0.450	90	89	0.460	92	91
			0.470	94		0.450	90	
		0.125	0.113	90	91	0.113	90	87
			0.115	92		0.105	84	
	skin	0.500	0.437	87	91	0.435	87	91
			0.472	94		0.470	94	

4. TC および OTC の回収率

数種の魚類の筋肉および皮をよく擂砕し，これらに一定量の TC 或いは OTC を添加し，これを 4 倍量のクエン酸緩衝液 (pH 5.2)・アセトン混液で抽出して，それぞれの回収率を求めた結果は Table 7 に示すようである。すなわち TC の回収率は筋肉では 88.8 ± 3.4% (標準偏差)，皮では 95.5 ± 4.6% であり，OTC の回収率は筋肉では 87.0 ± 3.7%，皮では 95.5 ± 6.7% であつた。

考　　察

組織中の CTC の定量法において従来用いられていた抽出剤，すなわち，塩酸・アセトン混液をクエン酸緩衝液・アセトンに変えると回収率が良くなり，操作が簡単になることについては前報[1,2,3]において報告

した。これらの方法は米国の FDA の方法[4]，American Cyanamid Co. の方法[5]，山崎・野木・高橋・梅沢法[6] 等よりも操作の簡易な点や回収率の高い点で優つている。

特に富山等の簡易法[3] が TC および OTC の定量にそのまま適用しえられることは本研究で明らかにされた。TC および OTC に対する検定菌の感度は CTC に対する感度の約 1/5 である点では，将来より感度の高い検定菌を検索する必要を残している。本法による TC 並びに OTC の回収率は 87～96% であつて，米国で用いられている CTC の定量法における回収率が 0.1mcg/g の場合 45%，0.25mcg/g の場合 58%，0.5mcg/g の場合 72% であるのに比べると，満足すべき値である。

本法における簡易化の重要な点は CTC の場合と同様に，標準曲線を毎回作るのを省略できたことである。もし標準曲線が従来の方法[4,5,6]のように組織抽出物の存在によつて変動するのであれば，毎回試料と近似し抗生物質を含まない組織の抽出液を用いて標準曲線を画かねばならない。しかし本法では組織抽出物の存在は標準曲線を変動させることがないので，標準曲線を毎回作らずにその回帰方程式を用いて換算することが可能となつた。したがつてこの簡易定量法によると，1人で1日に最少 20 個の試料の定量は容易であるから，食品におけるテトラサイクリン類の残存量の調査研究には極めて都合がよい。勿論この方法では CTC と OTC とを区別定量することはできないので，両者を混用した場合のそれぞれの組織中の残存量は求めえない。

なお本定量法には *B. cereus* #5 でなく #213 の胞子を用いたが，#5 の胞子化は容易であるのに対し #213 では，しばしば胞子化に失敗することを経験した。その原因の1つとしては培地の厚さが非常に重要であることが示された。これは一般に信ぜられているように培地の栄養成分が消耗されてから胞子化することを意味する。また接種菌の濃度が著るしく稀薄か或いは濃厚な場合に胞子化が不完全なことからみると，胞子化には菌の世代数と培地の栄養欠乏との或る適当な条件が必要かと推察される。

総　　括

1. 組織に含まれる微量の TC および OTC は CTC の定量に用いた簡易 cylinder plate 法によつて定量できる。

2. 検定菌の胞子化には接種菌量が適当であること，また培地の厚さが薄いことが必要である。

3. 定量しえられる最低濃度はいずれも約 0.03mcg/g である。

4. TC 或いは OTC の濃度の対数値と阻止帯経との関係を示す回帰直線の勾配はいずれも近似しているので，標準曲線を定量の度毎に作成する必要はない。

5. TC および OTC の筋肉および皮からの回収率はいずれもそれぞれ平均 88% および 96% であつた。

本研究は昭和 33 年度文部省科学研究費により遂行した。また日本レダリーからは抗生物質および定量装置について援助をえた。ここに記して謝意を表する。

文　　献

1) 富山哲夫・津田　厚・米　康夫: 本誌，**23**，660 (1957).
2) 富山哲夫・津田　厚・米　康夫: 本誌，**24**，289 (1958).
3) 富山哲夫・小林邦男・米　康夫: 本誌，**24**，937 (1959).
4) GROVE, D., and RANDALL, A.: Assay Methods of Antibiotics, A Laboratory Manual (Antibiotics Monographs No. 2) Medical Encyclopedia. Inc., New York, N. Y. (1955).
5) ABBEY, A.: Modified Microbiological Procedure for the Evaluation of Acronized Processed Products. Farm and Home Products Cyanamid International—30 Rockefeller Plaza, New York, 20, N. Y.
6) YAMAZAKI, S., NOGI, M., TAKAHASHI, S., and UMEZAWA, H.: *J. Antibiotics*, **10**, 87 (1957).

クロルテトラサイクリンの化学的定量法—I.*
—新螢光定量法

富山哲夫・米　康夫・北原慶子

(1959年5月21日受理)

A CHEMICAL METHOD FOR DETERMINATION OF CHLORTETRACYCLINE—I.
A NEW FLUOROMETRIC METHOD

Tetuo Tomiyama, Yasuo Yone and Keiko Kitahara**

Since chlortetracycline (CTC)-containing ice is being widely used for keeping the freshness of trawler's catches in the western sea area of Japan, a practical field method for the determination of CTC incorporated in ice is needed for field test of concentration, distribution and destruction of the antibiotic in the ice.

The method herein reported is based on a linear relationship between the chlortetracycline concentration and the intensity of fluorescence produced on irradiation of aluminum chelate of chlortetracycline with ultraviolet ray.

The method for the determination is as follows: To a 10 cc. aliquot of sample and each of standard solution series (1～5 mcg. per cc.) add 1 cc. of a 1% potassium alum ($KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$) solution in M/2 acetate buffer of pH 4.6. Allow it to stand from 20 to 60 minutes at room temperature. Measure the fluorescence of the sample at 500 mμ which is produced with excitation light of 365 mμ or 436 mμ. Similarly, measure the fluorescence of the alum-containing standard solutions, subtract blank value from each measured intensity of fluorescence, and draw a standard curve by plotting the intensity of fluorescence against the concentration of CTC. A representative standard curve is shown in Fig. 9. From the standard curve read the CTC concentration of the sample solution corresponding to the intensity of fluorescence from which blank value is subtracted.

I. 緒　言

クロルテトラサイクリン (CTC と略記) を含む氷が以西底引漁獲物の鮮度保持に現在広く使用されている。これに対し厚生省は氷中の CTC 量は 5 ppm 以下であることを規定しているので，氷中の CTC 量の簡易な化学的定量法が食品衛生の立場から要求されている。

著者の1人（富山）はアルミ鍋で煮沸し冷却した水道水中で CTC が紫外線照射により黄金色の螢光を放つことを偶然に観察したので，この螢光分析によつて CTC の定量が可能ではないかと想像して本研究を行つた。分光光度計を用いて先ず種々の金属イオンによる螢光度の差異をみたところ，アルミニウムイオンの存在によつて CTC の螢光が最も強く現われるのを見出したので，定量法の決定に必要な種々の条件を検討した結果，一新定量法を決定することができた。

II. 定　量　法

1. 試薬，標準液および試料の調製

a. 試薬: 1%カリ明礬液: 1 g のカリ明礬 $KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ を pH 4.6 の M/2 醋酸緩衝液 100 cc

---

* 本研究の大要は 1958 年 4 月東京における日本水産学会年会で報告した。

** 九州大学農学部水産化学教室 (Lab. Fish. Chem. Fac. Agr. Kyushu Univ.).

(印刷費負担)

にとかす。この緩衝液はつぎのようにして簡単に調製できる。先ず約 1 M 醋酸の 50 cc をフェノールフタレインを指示薬として約 1 M 苛性ソーダで中和し滴定値を求める。この滴定値の半量を前記 1 M 醋酸の 50 cc に加え，全量を 100 cc に定容すれば pH 4.6 を示す。

b. CTC の標準原液： クロルテトラサイクリン塩酸塩の 100 mg を蒸溜水にとかし 200 cc に定容する。この液 1 cc を小試験管に入れ凍結する。この状態に保存すれば約 2 ケ月は変化しない。

2. 定量装置

本研究では日立製作所製分光光度計 EPU-2 型を使用し，10 mm の螢光測定用キュベットを用いた。第一次フィルターには 365 mμ 或いは 436 mμ のものが使用できるが，iso-CTC の混在する恐れのある場合には後者のフィルターを用うべきである。

3. 定量操作

1 cc の CTC 標準原液を蒸溜水で 100 cc に稀釈し 5 mcg/cc の液をつくる。これを更に蒸溜水で稀釈して 4, 3, 2 および 1 mcg/cc の標準系列をつくる。これらの標準液 10 cc および試水 10 cc に 1 % カリ明礬試薬 1 cc ずつをそれぞれ混和し，20 分放置後よく攪拌してから螢光測定用キュベットにいれ，365 mμ 或いは 436 mμ 附近の励起光線を照射して生ずる 500 mμ の螢光を分光光度計で測定する。分光光度計の同一感度の条件で測定した標準液の螢光から濃度対螢光の関係を示す標準曲線を画き，これを用いて試料の CTC 濃度を求める。

本定量で注意すべきことは水洗で除き難い Al-キレートがキュベットに附着して盲検値が見掛け上大きくなることがある。したがつてキュベットはクエン酸・塩酸混液でしばしば洗滌せねばならない。

なおこれらのカリ明礬試薬を加えた標準系列および試水は室温で 3 時間は一定の螢光を示す。その後次第に増加し，室温では 2 日，冷蔵庫 (5～−3°C) 内では 2 週間は初めの螢光の 1.0～1.3 倍の螢光を保つている。

III. 実験結果および考察

1. CTC とキレートして螢光を発する金属

CTC とキレートして螢光を放つ金属を定性的に探したところ，Al, Ba, Mg, Ca, Zn, Th, Hg, Mn, Pb およびWにこの性質のあることを知つた。これらの金属のうちで強い螢光を放つた Al, Mg および Th について再検討した。金属が CTC とキレートする場合には金属と CTC との比は多くの場合 1 原子：1 分子であり，またこのキレートの安定度はその溶液の pH によつて異なると報告した石館・坂口両氏[1] および坂口氏等[2] の研究にもとずき，CTC の一定量に対する各種金属の添加量の割合およびそれら溶液の pH を一定にして，各金属キレート化合物の螢光度を比較した。その結果は Table 1 に示すようで，pH 4.6 および pH 6.0 のいずれの場合にもアルミニウムとのキレート化合物が最も強い螢光を放ち，ついで Th, Mg, Zn の順であつた。しかし解離度の大きいキレート化合物は 1 : 1 の比以上の金属を加えなければ CTC は完全にキレートしない

Table 1. Relative intensity of fluorescence of metal-CTC chelates*

Kinds of salt	%	max. (mμ)	Intensity of fluorescence pH 4.6	Intensity of fluorescence pH 6.0
$AlK(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$	.00496	500	41 (48)	77 (26)
$Al_2O(CH_3COO)_4 \cdot 4H_2O$	.00198	500	12 (13)	15
$Th(NO_3)_4 \cdot 4H_2O$	.00580	510	12 (6)	6
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	.00258	510	1	2
$PbCl_2$	.00296	500	0	1
$Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$	.00396	500	2	2
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	.00154	470	1	5
$Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	.00353	470	6	6

* 10 cc. of CTC (5 mcg./cc.) in M/16 acetate buffer (pH 4.6) plus 1 cc. of metal salt solution.

Values were obtained shortly after mixing with the reagent, and values in parenthesis were those after a 20-minute standing.

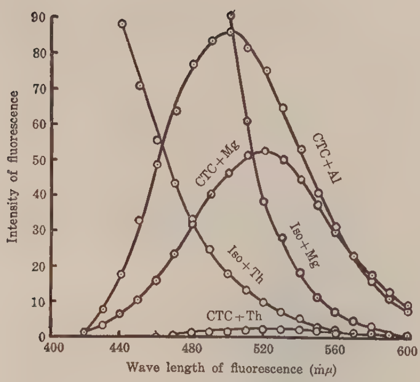


Fig. 1. Fluorescence curves for metal chelates of CTC and iso-CTC.
Experimental conditions for preparing chelates were as follows: CTC + Al, 10 cc. of CTC (5 mcg./cc.) plus 1 cc. of 1% Alum in M/2 acetate buffer; for CTC or iso-CTC+Mg, 10 cc. of CTC or iso-CTC plus 4 g. of $MgSO_4$ and 300 mg. CH_3COO-Na; for CTC or iso-CTC+Th, 10 cc. of CTC or iso-CTC plus 1 cc. of 0.1% Th $(NO_3)_4 \cdot 4H_2O$ in M/2 acetate buffer.

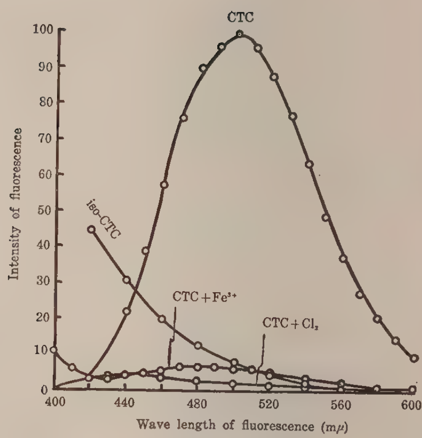


Fig. 2. Fluorescence curves for CTC and decomposed CTC in the presence of Al^{3+}.
Experimental conditions for preparing decomposed CTC were as follows: CTC + Fe^{3+}, CTC (5 mcg./cc.) plus 20 ppm of Fe^{3+}($FeCl_3$), measurment being made after 3-day standing at room temperature; CTC + Cl_2, CTC (5 mcg./cc.) plus Cl_2 (10 ppm), fluorescence being measured shortly after the addition.

し，またキレート化合物が最も強い螢光を発する pH は金属の種類によつて異なり，また各種金属キレート化合物の最大螢光波長も金属の種類で異なる。それ故に， Al, Mg, および Th について最大の螢光を発する条件を求め，この条件における螢光度を分光光度計を用いて測定したところ， Fig. 1 に示すように Mg の螢光は Al のそれの約 1/1.7, Th は Al の約 1/34 であつた。

2. CTC および CTC 分解物の螢光曲線

本反応を水中の CTC の定量へ発展させるためには，CTC と Al とのキレート化合物の螢光曲線を知ること，また CTC の熱およびアルカリによる分解物である iso-CTC, 水中の Fe^{3+} および Cl_2 による酸化分解物等が Al^{3+} の存在でどのような螢光曲線を示すかを知らねばならない。因て 5 mcg/cc の CTC, 或いは CTC の分解液を定量法にしたがつて処理し， 30 分後に分光光度計を用いてそれぞれの螢光曲線を画いた結果は Fig. 2 に示すようである。すなわち CTC の Al キレート化合物の最大螢光波長は 500 mμ であり，Fe^{3+} および Cl_2 で酸化した分解物の 500 mμ の螢光度はそれぞれ CTC の 6 % および 2 % であつた。他方 iso-CTC の 500 mμ における螢光は 8 % を示したが， 436 mμ の第一次フィルターを用いると，この値は Fig. 3 に示すように 4 % と減少した。

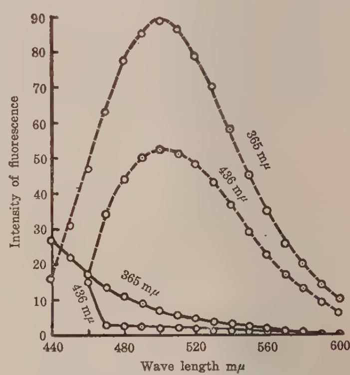


Fig. 3. The effect of primary filter characteristic (436 mμ, 365 mμ) on fluorescence of CTC and of iso-CTC in presence of Al^{3+}.
--○-- CTC + Al
—○— iso-CTC + Al

5 ppm 以下では CTC 濃度および iso-CTC 濃度と螢光度との間にはそれぞれ Figs. 9 および 4 に示す

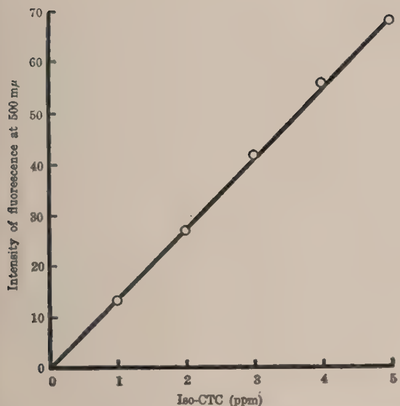


Fig. 4. Relationship between concentration and fluorescence of iso–CTC in presence of Al^{3+}.

ように直線関係があるので，もし氷中の 5 ppm の CTC が破壊して 4，3，2 および 1 ppm に減じ，その分解物がすべて iso–CTC であつたとした場合，本定量法値のもつ誤差は容易に算出できる。365 mμ の第一次フィルターを用いた場合の算出誤差と実験的に求めた誤差とは Table 2 に示すように近似しており，CTC が iso–CTC に比して少い場合はかなりの誤差を招く。しかし 436 mμ の第一次フィルターを用いた場合にはこの誤差は小さい。実際に製造直後或いは 30 日経過した CTC 氷には iso–CTC は極めて少量 (1 ppm 以下) であつたから，定量値にはほとんど影響しないであろう。

つぎに Th および Mg と CTC のキレート化合物が最も強い螢光を発する条件を求め，その条件における CTC および iso–CTC の螢光曲線を画いた。その結果は Fig. 1 に示した通りで，Th 或いは Mg のキレート化合物の螢光が弱いために，iso–CTC の螢光との間に余り差がなかつた。したがつて iso–CTC が存在する場合には Th キレートとして CTC を螢光定量することは明かに不可能であり，Mg キレートとして螢光定量することも困難であろう。

Table 2. Interference caused by presence of iso–CTC

Primary filter (mμ)	Wave length for measuring fluorescence (mμ)	Sample solution: CTC mcg./cc.	Sample solution: iso–CTC mcg./cc.	Calculated: CTC mcg./cc.	Calculated: % error	Found: CTC mcg./cc.	Found: % error
365	500	4	1	4.07	+ 2.0	4.15	+ 4.2
		3	2	3.14	+ 4.7	3.28	+ 9.3
		2	3	2.20	+10.0	2.30	+15.0
		1	4	1.27	+27.0	1.47	+47.0
436	500	4	1	4.04	+ 1.0		
		3	2	3.08	+ 2.7		
		2	3	2.12	+ 6.0		
		1	4	1.15	+15.0		

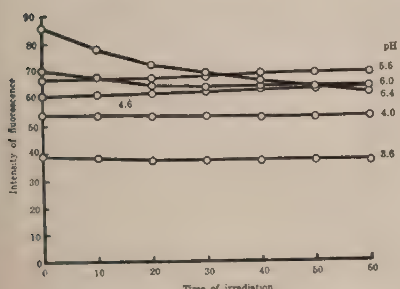


Fig. 5. The effect of pH on the fluorescence.

以上の結果から CTC の Al キレートが長波長の紫外線照射により螢光を放つ性質を利用して新定量法を確立しうる見透しがえられたので，つぎに定量の基礎条件を検討した。

3. 螢光度におよぼす pH の影響

SEREMBE[3] は CTC そのものの螢光は pH によつて変化すると報告している。坂口氏等によると CTC の金属キレートの安定度はその溶液の pH により異なる[1,2]。したがつて最も強く，且つ安定な螢光を与える pH を知るために，醋酸緩衝液で pH を数段階に調節した CTC 液に pH を同様に調節したカリ明礬試薬を加え，20～60 分後に螢光を測定した。Fig. 5 にみられるように pH 5.5 以下では測定中に螢光はほとんど変動しなかつたが，pH 6.0 以上では急激に減少した。これは Al キレート化合物が pH 6.0 以上では難溶なために溶液から析出してくるためであろう。以上の結果にもとずいて試料の pH を 4.6 に調整することにした。

4. 試薬添加後の螢光の時間的変化

1〜5 mcg/cc の CTC 液にカリ明礬試薬を添加した後，1 時間室温に放置中における螢光度の変化を分光光度計を用いて測定した。その結果は Fig. 6 に示すようであつて，螢光は 2〜5 分後に最高値を示し，その後次第に減少して 20 分後より一定値に達した。したがつて分光光度計による螢光の測定は試薬添加後 20 分以後に行うべきである。なおこのカリ明礬試薬を添加した CTC 液を室温（25〜28°C）および冷蔵庫（0〜5°C）に長時間放置して螢光の変化を分光光度計を用いて測定したところ，Fig. 7 に示すように，いずれの場合も 3 時間内はほとんど一定の螢光を示したが，その後次第に螢光が強くなり，室温に放置した場合は 22 時間後に，冷蔵庫に放置した場合は 70 時間後に最高値を示した。その時のそれぞれの螢光は 30 分後の各螢光を 100 とすると 129 および 127 であつた。その後の螢光はいずれの場合にも次第に減少した。

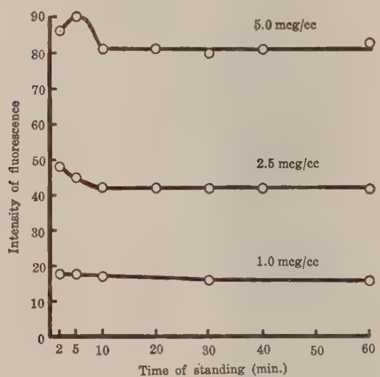


Fig. 6. The effect on the fluorescence of the time of standing after the addition of the reagent.

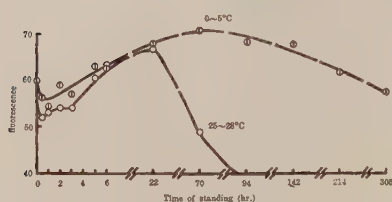


Fig. 7. The change in the fluorescence with time of standing for long duration.
○ at room temp., ⦶ in refrigerator

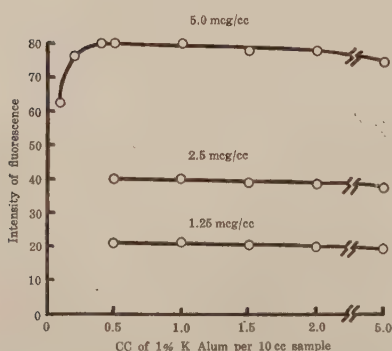


Fig. 8. The effect of amount of the alum reagent on the fluorescence.

5. 試薬の添加量と螢光の強さ

CTC 液に加えるカリ明礬試薬の量と螢光度との関係を求めた結果は Fig. 8 に示す通りで，0.4 cc 以上では添加量を増しても螢光度の変化は少なかつた。したがつて本定量法では 10 cc の試水に対し 1% カリ明礬試薬 1 cc を添加する割合とした。

6. CTC 濃度と螢光度との関係

以上の基礎実験の結果，最大螢光を示すための条件が分つたので，それらの最適条件下で種々の濃度の CTC が Al^{3+} の存在で放つ螢光と CTC 濃度との関係を求めた。なおこの場合に CTC を蒸溜水に溶解し

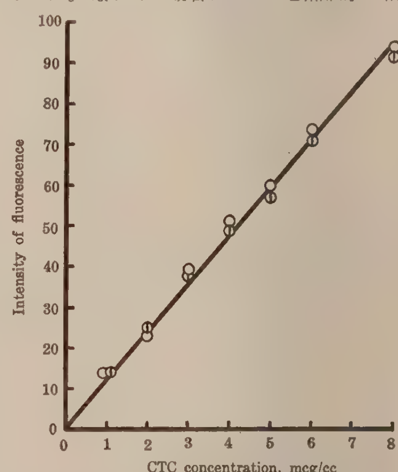


Fig. 9. Relationship between CTC concentration and fluorescence of CTC–Al–chelate.
○ CTC in distilled water, ⦶ in tap water containing carboxymethylcellulose, $Na_2S_2O_3$ and NaCl.

Table 3. Data for a standard curve

CTC mcg. per cc.	Fluorescence reading					Average, ± stand. deviation	Calc.
8	100	102	103	102	107	102.8 ± 2.6	103.1
7	93.2	93.0	95.1	93.0	93.1	93.5 ± 0.9	90.7
6	76.5	75.5	77.6	76.2	76.0	76.4 ± 0.8	78.3
5	67.0	66.2	65.0	66.2	66.5	66.2 ± 0.7	65.9
4	51.3	52.0	51.0	48.0	55.0	51.5 ± 2.5	53.5
3	41.1	41.2	41.6	39.9	40.2	40.8 ± 0.7	41.1
2	29.2	30.5	29.5	30.4	30.1	29.9 ± 0.6	28.7
1	17.9	17.0	16.0	18.1	18.2	17.4 ± 0.9	16.3
0	3.3	3.3	3.8	3.0	3.6	3.4 ± 0.3	3.9

た液についてだけでなく，カーボオキシメチルセルローズ (CMC), $Na_2S_2O_3$ および NaCl を市販の CTC 氷と同じ割合に水道水に溶解したものについても測定した。その結果は Fig. 9 および Table 3 に示す通りで，いずれの場合にも CTC 濃度と螢光度との間には 8 mcg/cc 以下では直線関係がみられた。なお蒸溜水と CMC, $Na_2S_2O_3$ および NaCl を添加した水道水との間には差が認められなかつた。CTC 濃度 (x) に対する螢光度 (y) の回帰直線の方程式を Table 3 に示した値から求めると $y-53.5=12.4\ (x-4)$ となり，また回帰係数の 99% 信頼限界は 12.4 ± 0.35 となる。

IV. 総　　括

CTC とアルミニウムとのキレート化合物の溶液に 360 mμ および 436 mμ 附近の励起線を照射すると黄金色の螢光を放出するので，これを利用した CTC の一新螢光定量法を考案した。結果を要約するとつぎの通りである。

1. 螢光を放つ CTC の金属キレート化合物の内でアルミニウムが最も強い螢光を示した。
2. CTC のアルミニウムキレート化合物の最大螢光波長は 500 mμ であつた。
3. 安定な螢光を示す pH は 5.5 以下であり，本法では pH 4.6 を選んだ。
4. 試薬として加えるカリ明礬の濃度は一定量以上存在すれば，螢光度には僅かしか影響しなかつた。
5. 試薬を添加してから螢光が安定するのは 20 分から 3 時間の間であつた。
6. CTC の塩素或いは鉄による分解物の存在は定量に影響しないが，iso-CTC の多量の存在は定量を阻害する。436 mμ の第一次フィルターを用いると，この阻害を小さくすることができる。

本研究は文部省科学研究費および日本レダリーの支援によつて遂行した。また実験には森健児，豊田恭平および岩崎富生の各位の助力を受けた。ここに各方面の厚意と協力とに謝意を表する次第である。

文　　献

1) Ishidate, M., and Sakaguchi, T.: *Pharm. Bull.* (Tokyo), **3**, 147 (1955).
2) Sakaguchi, T., Toma, M., Yoshida, T., Omura, H. and Takasu, H.: *Pharm. Bull.* (Tokyo), **6**, 1 (1958).
3) Serembe, M.: C. A., **46**, 1152. C. A., **50**, 1970.

抄　　録

合成繊維漁網の性能　第一部　J. TRUNDLL: *World Fishing*, **6**, (10), 53〜58 (1957). 種々の繊維でつくられた網の中でナイロン刺網の漁獲性能が特によいのは，ナイロンは水中で半透明で，強いから細かい糸ででき，使用中よごれ難く，毛羽立ちが少なく，染着性および堅牢度が大きいので海中環境に調和させられる等のために網が見えにくいことを主な理由とし，この外に零度以下の低温でも固くならないことを附言している。また細い糸が使え，比重が小さいから網の面積の割に所要量は比較的少なくなり，腐らず，したがつて保存処理を要しないこと，耐用命数が大きいこと等の理由により寧ろ経済的であることを主張している。ナイロンは刺網についで旋網に多く用いられているが，それは種々の機械的性質が大きいために一時に大量の漁獲をあげられるのが大きな理由であるとし，底曳網としては使用量は左程多くはないが試験的には成功し，U.K. Grimsby においては Square と Wing はマニラ麻網が用いられるが，その他の部分にはナイロンの組紐が Double knot にして使用されている。中層トロールにおいては未だ試験段階にあるが，今までの試験結果は良好である。(下崎)

漁獲の魚群量に対する影響について　R. P. SILLIMAN and J.S. GUTSELL: *Trans, 22nd North American Wildlife Confer.*, 464〜471 (1957). 魚の population dynamics を実験的に研究したおそらく最初のものであろう。光，水温，餌料を一定した 4 個の 10 ガロン水槽（内 2 個は対照用）で guppy, *Lebistes reticulatis* を飼育し，週に 1 回それぞれ数と重量を記録した。また二つの実験水槽からは 3 週間ごとに（だいたい guppy の繁殖週期にあたる）きまつた漁獲率で魚をとり除いた。漁獲率は 25 %，10 %，50 % および 75%と順次変化させ，全実験期間は 130 週におよんだ。対照水槽内の guppy の数は成魚，未成魚ともほとんど変化しなかつたが，実験水槽では全数も，成魚と未成魚の組成もそれぞれの漁獲率に応じていちじるしい変動を示した。すなわち，漁獲率が 25 % の時には，成魚，未成魚とも多少の変動の後ある組成のレベルにおちつく。25 %から 10 % に変えると guppy 資源はだんだんと回復するが，この間の漁獲量は安定しているが利用の程度が低いといえる。50%にすると，資源量の変動の傾向は 25 % の時と似ているが，成魚の最終レベルは予期されたとおり 10 %，25 %のいずれよりもはるかに低い。この間の漁獲量ははじめ一時的に増えるが，その後だんだんと減少し低いレベルにおちつく。75%にするとこれはもう破滅的であつて，漁獲量も資源量も急激に減り，明らかに濫獲となる。以上の結果から，この guppy 資源からの max. equilibrium yield は約 3.5 gr. で漁獲率が 30 〜 40 % / 3 週間の時に得られることがわかつた(これに対応する資源量は約 10〜15 gr. である)。著者等はさらに漁獲をうけている資源の状態を診断するために，ふつうに使われている漁獲量，C.P.U.E. および漁獲物の大きさの 3 つのデータ guppy を資源の変化に対応させ，種々興味ある議論を展開している。(能勢)

魚類の Subpopulation の研究について　J. C. MARR 編: *Spec. Sci. Rep. Fisheries* **No. 208**, 1〜129 (1957). J. C. MARR ほか 10 人の著者が Subpopulation の問題について分担，執筆した報文 11 篇を収録している。Subpopulation についての全体的な概観と将来の展望を総まとめ的に MARR が筆をとり，形態学的データの比較に関しては，W. F. ROYCE が現在よく使われている統計学的検定の立場からだけでは不充分であるとして，GINSBURG の overlap method を標本論的に修正した形でもち出している。しかし，どの程度の overlap があれば Subpopulation とするかの規準がないところがこの方法の泣きどころである。ROYCE は多形質の測定値を同時に用いる FISHER，RAO および MEHALANOBIS の判別函数についても言及している。

T. M. WIDRIG と C. A. TAFT は近接した水域間の魚群の混合率を計測値から推定する方法をみちびき，Monterey から San Pedro に移動する Pacific sardine *Sardinops caerulea* のある年級群の体長組成のデータに応用して San Pedro にきた魚群の 12〜33%が前の年に Monterey にいた魚であると結論している。また，D. A. FARRIS は分類学における Paper chromatography 法について，G. J. RIDGWAY は race 判別のための血清学的方法についてそれぞれ綜述している。

E. H. AHLSTROM，O. B. COPE，E. C. RANEY，MARR および P.H. ESHMYER が各論的に Pacific herring *Clupea pallasi* ほか 10 種にのぼる魚種の種族査定の結果をとりまとめている。ほかに，S. F. SNIESZKO は brook frout *Salvelinus fontinalis* の Subpopulation によつて腫瘍性の病気による死亡率のちがうことを実験的に確かめている。なお，MARR の 2 番目の論文には appendix として Sardine の標識放流についてのかなりくわしい計画がついている。(能勢)

ヨーロッパウナギの眼色素の変態について　D.B. CARKISLE, E.J. DENTON: J. *Mar. Biol. Ass. U.K.*, **38** (1), 97〜102 (1959). ウナギはその生活史において深海から淡水に及ぶ広範な環境の変化をうけるため種々の生理，生態的な順応がみられる。

筆者等はヨーロッパウナギ *Anguilla anguilla* の網膜色素の変化と，眼球の大きさの変化が視力に及ぼす影響とについて実験している。使用材料は淡水生活中の所謂 yellow eel と silver eel および後者に脳下垂体前葉ホルモンを注射して成熟を促進させたものを用いた。これを2日間暗順応さした後，網膜をとり出し，リンゲル液中で光の吸収状態を測定した。黄ウナギの網膜は紫色で銀ウナギのは金色であつた。深海魚は一般に金色の網膜をもつことから銀ウナギの網膜は淡水生活中にすでに産卵のため深海に移動するための準備がなされていると考えられる。光の吸収量は両者の間に波長で約 33 mμ の差異がその変異曲線の最大値で認められた。眼の大きさは体長 61 cm の黄ウナギでは眼径 3.3 mm であつたが同じ体長のものにホルモン注射をおこない成熟を促進させ銀ウナギの状態にしたものではその値が 7.8 mm になり次第大きくなることを認めた。網膜の円柱状体の層の厚さは最も厚い部分で黄ウナギで 86μ，銀ウナギで 92μ であつた。これらのことから銀ウナギの眼には深海で光を効果的に吸収できるような変態がすでに行なわれていることが知られる。(服部)

魚類ヘモグロビンの不均一性 D. R. BUHLER and SHANKS: *Science*, **129** (3353), 899~900 (1959). 14 種の淡水および海産魚類のヘモグロビンについて沪紙泳動図によつて得た易動度 (pH 8.8，イオン強度 0.05) を正常なヒトのヘモグロビン (A) と比較すると，1~3 種の成分の存在することがわかつた。また，同種の魚については性，年令，系統による大きな差異は認められなかつたこと，一般に最も大きな成分は易動度も最大であることおよび pH 8.6 における小さな易動度と等電点の高いことは脊椎動物中で特有なものであることが確かめられた。一般に魚のヘモグロビンは小さな正の易動度を示すことが特徴であり，Electroosmotic buffer flow のために陰極側に動くことは興味がある。ニジマスの三成分の pH 8.6 における易動度は -2.39×10^{-5}, -1.24×10^{-5} および -0.70×10^{-5} cm^2/V/sec. である。

使用した装置は spino model R，沪紙は S および S 2043 A，透析したヘモグロビンの泳動には Perkin Elmer の model 38 が用いられた。(佐野)

ソ連における魚病の研究 O, BAUER: *Z. Fisch.*, **7** (1/2), 153~160 (1958). ソ連で池中養殖されている魚種は主にコイで，この外ギンブナ *Carassius auratus gibelio*, シライエ *Tinca tinca*, *Esox lucius*, *Coregonus* 属の魚及びニジマス等である。魚病の研究は内水面漁業研究所，池中養殖研究所およびモスコー水産大学で行なわれている外，他の大学，研究所の学者によつて行なわれている。最近重要な疾病について研究されて養魚の損耗が少くなつてきた。コイ，ニジマスの主な疾病についての最近の研究は次の通りである。

キロドン病：冬囲いの1才鯉に被害甚大だつたが，研究の結果減少した。I. BESPALYI '50 は，病原虫は個体変異は大きいが，*Chilodonella* 属の1種であることを明らかにした，Wniorch の研究室では被囊形成は不適当な条件下で起ること，栄養状態不良の魚に本虫の増殖が旺盛なこと，太陽光線で本虫の繁殖を阻害すること等を明らかにした。防除策は普通コイと黒竜江コイ *C. carpio haematopterus* との交配による抵抗性の強い品種の養成，結氷期まで良質の餌料投与，5％食塩水浴，また Cyst の殺滅のため石灰消毒の実施等である。

白点病：I. SCHTSCHUPAKAW '51, '52, '54, O. BAUER '53, '55 により *I. multifiliis* の感染によつて魚体が或る程度免疫性を獲得すること，本虫は 3°C 以下では繁殖しないし，また冬期被嚢(Winter cyst) を形成しない，26°C 以上では繁殖は不適当となり，游泳体の生存時間が短くなること，水の塩分量が増加すると被嚢形成が抑制され，0.7％以上だと游泳体の発生がないことなどを解明した。防除は親魚の検疫，0.7％食塩水中に長期間水浴することなどである。

鱒の旋回病：'52 年に本病が始めて発見された。A. USPENSKAJA, '55 によれば本虫の胞子は秋，マス稚魚の軟骨だけでなく，いろいろな器官ならびに腸管にも存在することが発見され，したがつて宿主から胞子が外界に排泄されることが推察された。

鯉のダイチロギルス病：病原虫は *Dactybogrus vastator* と *D. solidus* (=*D. extensus*) の2種があり，前者は南，中部，後者は北西部地域に分布する。B. BYCHOWSKY, '33, E. LAJMAN '48, '51, '55, O. BAUER '54, N. ISUMOWA, '53, '55, '56 等は，*D. vastator* 成長，繁殖に対する温度，光線，O_2 量等の影響を明かにした。駆虫法は 0.1% NH_4OH 水浴が効果的である。*D. solidus* は *D. vastator* より低水温 (13~15°C) に繁殖結好，O_2 欠乏に感受性が強い。駆虫法は 0.2%NH_4OH 水浴がよい。

鯉の住血吸虫症：M. MALEWITZKAJA '37, '50, E. LAJMAN '49, N. IWASIK '53, A. TSCHETSCHINA '54 等により *Sanguinicola inermis* は南部，中部および北西部に分布していることが知られた。本虫は夏よく繁殖し，この時期が魚に危険なこと，本症は1才鯉では鰓の血管を犯し Branchiomycose に非常に似ており，また2才鯉では腹水病の腎臓型によく似ていることなどが明かにされた。防除策は夏期，池の日乾，土質改良等である。

鯉の赤斑病：ドイツでいわれている腹水病はソ連では赤斑病として扱われている。ソ連の M. PESCHKOW '51, G. GONTSCEAROW '46, '49, '50, '51, '54 等は，本病因は1種の Virus, *Dermatropus hoemorrhagicum piscis* であると見做しており，病菌 *Schromabaeter* (*Pseudomonas*) *punctata* は二次的なものと認めている。その根拠は罹病魚の組織中にエオジン嗜好性細胞封入体が検出されるこ

と，無菌沪液の接種により供試魚は本病に罹ること，本病の診断に ABV—反応が応用されること，*Pseudomonas* を接種しても感染しないことなどである。附除策は池中善魚は2才鯉に転換，罹病池の夏期における日乾，土質改良，種苗魚の移送制限，人工免疫等である。

鰓のカビ病 (Branchiomycose)：本病は南部地方に分布する。I. BESPALYI '49, '50 は *Branchiomyces* の新しい人工培養法，種の査定また A. SCHTSCHERBINA '52 は疾病の予防処置法を研究した。

鯉の粘液胞子虫症：*Myxobolus cyprini* および *M. dispar* の病害が観察されているが充分な研究はなされていない。

鯉の球胞子虫症：各地で最近観察されるようになつた。病原虫は *Eimeria cyprini* でウクライナ地方では腹水病の経過を増悪せしめている。1957 年に基礎研究が開始された。(佐野)

海産魚の窒素排泄について J.D. WOOD: *Can. J. Biochem. Physiol.*, **36**, 1237〜1242 (1958). トリメチルアミンオキシド（I）は海産魚筋肉および尿中に見出される特異的な成分であるが，その生理的意義については未だ明確な結論に達していない。そこで sculpir (*Leptocottus armatus*), starry-flounder (*Platichthys stellatus*), および bluesea perch (*Taeniotoca lateraris*) の3種の海産魚について排泄物中の窒素化合物の分析を行い，海産魚中の TMO の起源について考察した。H.W. SMITH と同様の方法を用いて，海産魚でも窒素排泄物の77%が鰓から排泄されることがわかつたので，魚(150〜360 g) を 1〜2 *l* の海水中で 24 時間通気しながら飼育し，この飼育水中に排泄されたアンモニア(II)，尿素(III)，トリメチルアミン(IV)，I，およびクレアチン＋クレアチニン(V) を定量した。上記3種の魚を通じ，IIおよびIIIが大部分で全窒素の75〜98%を占め，V は 0〜1.1%で非常に少い。I も 0〜3.8%に過ぎず，この物質が BALDWIN の主張するような蛋白代謝の無毒最終生産物ではなく，魚類では外因性のものであると考えられる。なお，3〜13 % の窒素の形態は不明であり尿酸およびアミノ酸は検出されなかた。(岡市)

魚肉の抽出物-2. 油脂および水溶性物質の抽出における溶剤対水の割合 N. DAMBERGS: *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **16** (1), 63〜71 (1959). 魚肉の成分を研究するため抽出物をとる必要がしばしばあるが，抽出自体に関する研究は少い。著者は魚肉の粗抽出物を便宜上（a）油脂（b）蛋白性物質（c）水溶性物質の3つに大別し，その各々をアセトンまたはイソプロパノールで抽出する際の溶剤中の含水量と抽出率との関係をしらべた。試料はタラ肉よりえた魚粉を用い，方法としては試料を 10 倍量の溶剤で 30 分間煮沸した後液部を分離し，残渣はさらに新たなる溶剤で同様に処理し，4回以上の抽出を行つた後えられた粗抽出物中の油脂,蛋白性物質,水溶性物質を定量することにした。その結果抽出率にもつとも関係する factor は溶剤に対する水の割合であり上記の3群の各々についてはつぎのごとくであつた。(1) 油脂の抽出率は溶剤中の水分量が増加するにつれ増加し水分量 20〜30 % のところで最大値に達しそれ以上では再び急激に減少する。(2) 水溶性物質の抽出率は水分量の増加にしたがつて急激に増加し 50%以上のところで最大値に達する。(3) 蛋白性物質は水分量が 20 % に達するまではほとんど抽出されないがこの点をすぎると抽出率は急激に増加しアセトンでは 60%,イソプロパノールでは85%以上の水分量のところで最大値に達する。(衣巻)

アセトン-水混合物による油脂の抽出 N. DAMBERGS: *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **13** (6), 791〜797 (1956). 従来定量の目的で生体内の油脂を抽出するには，試料を脱水後無水の油脂溶剤で抽出するとか，試料を加水分解した後溶剤で抽出するとかいつた手段が用いられているが，著者は試料をそのまま含水アセトンで煮沸した後，アセトン可溶部をとり，さらにエーテルで抽出することにより，A.O.A.C 法などよりも正確で再現率の高い値が短時間でえられることを見出した。この場合もつとも油脂の抽出率に関係する factor はアセトンの含水量で 20〜30%のとき最大の抽出値がえられた。溶剤量は試料(乾物として)に対し 10 倍量で充分であり，30 分間の煮沸抽出を2回行えば油脂は完全に抽出される。この場合2回の抽出に使用するアセトンの一方を無水のアセトンにしてもよい。すなわち著者の推奨する方法では魚粉の場合，最初無水アセトン2回目に 30±5%含水のアセトンを使用し，鮮魚のごとき 10 % 以上の水分を含む試料の場合，最初の溶剤は液相の含水量が 20〜30 % となるような程度の水を含んだアセトン，2回目は無水アセトンを使用する。この理由は魚粉では最初無水アセトンを使用すると (1) アセトン蒸溜に要する時間が短縮され，(2) 初め無水アセトンで一部脱脂された魚粉はつぎに含水アセトンで処理した時ふくらみ溶剤の滲入を容易になり，(3) 変質した魚粉から得た抽出物よりの油脂の分離を容易になるからである。これに反し鮮魚ではゲル化を防ぐために蛋白を凝固させる必要があるので，はじめ無水アセトンを使用すると蛋白がかたく凝固し溶剤が内部に滲入しにくくなるが，20〜30%含水のアセトンでは蛋白の加水によりかたく凝固するのを防ぐからであるとしている。(衣巻)

細菌芽胞の発育中における燐酸塩の利用 M. T. HYATT and H.S. LEVINSON: *J. Bact.*, **77** (4), 487〜496 (1959). *B. megaterium* QMB 1551 の芽胞の発芽 (germination) と発芽後生長 (postgerminative development) の至適 pH は前者が 6.5 附近，後者が 7.8 附近にあつて，pH 6.0 では発芽は起るが発芽後生長は起らない。燐酸塩がない場合でも発芽はするが発芽後生長は起らず，発芽後生長

には燐酸塩を必要とする。発芽しただけではほとんど酸素消費を示さないが，発芽後生長がはじまると急激に酸素消費は増加する。この発芽後生長には orthophosphate として 0.5～1.0 mM の燐酸塩で十分であるが，酸素消費は燐酸塩濃度が高くなるほど多くなる。このような働きをする燐酸塩は供試した 13 種類の無機および有機燐酸塩全部が効果を示し，とくに Mn^{++} を加えた場合にはその効果が著しい。Zn^{++}, Mg^{++}, Mn^{++} はの代用になり得る。orthophosphate および pyrophosphate の利用にはとくにMn^{++}を必要としないが，trimetaphosphate, tripolyphosphate, G1P, G6P の利用には Mn^{++} の添加が必要のようである。発芽した芽胞を用いて pyrophosphate が orthophosphate に加水分解されることを確めることができた。しかし発芽後生長を起させるほかの燐酸化合物の加水分解は証明することができなかつた。(横関)

加熱処理した牛肉の色調の光学的研究 A. L. TAPPEL: *Food Research*, **22**, 404～407 (1957). 牛肉の色調は加熱処理あるいはその後におかれた状態によつて変化するが，その色調の変化と筋肉色素との関係について，種々の状態の肉の反射率を測定し，反射の極小を求めて純粋な筋肉色素の誘導体の吸収の極大と比較し検討した。供試牛肉は（Ｉ）生の状態のもの，（Ⅱ）半煮のもの，（Ⅲ）充分に加熱処理したもの，(Ⅳ) 加熱後，hydrosulfite 溶液で処理して還元したもの，(Ⅴ) 加熱し，還元し，さらに一酸化炭素で処理したもの，(Ⅵ) 加熱し，還元し，さらに cyanide で処理したものなどの 6 つの場合について 400 mμ から 600 mμ までの反射率を測定し，反射の極小を求めた。その結果これら反射の極小はつぎの各筋肉色素の誘導体の吸収の極大とよく一致した。すなわち（Ｉ）および（Ⅱ）は oxymyoglobin, (Ⅲ) は変性 globin hemichrome, (Ⅳ) は変性 globin hemochrome および nicotinamide hemochrome, (Ⅴ) は変性 globin carbon monoxide hemochrome, そして (Ⅵ) は変性 globin cyanide ferroporphyrin に。牛肉色素 hematin pigment はかなり明確で特異的な反射の極小を与えた。充分に加熱処理した牛肉の褐色の色素は光学的に混合した変性 globin nicotinamide hemichrome として最もよく特徴づけられた。(小泉)

加熱処理したカキの品質判定法としての TBA 試験 MARK G. SCHWARTZ and BETTY M. WATTS: *Food Research*, **22**, 76～82 (1957). 加熱処理して酵素を殺したカキは冷蔵中その品質の低下にともなつて生カキの場合と異つた変敗臭を発するが，これはカキの不飽和脂肪酸に関係があるものと思われる。したがつてその品質は TBA 値を測定することによつて判定することが出来るはずである。TBA 試薬を生カキおよび加熱処理したカキに作用させると桃色を呈し，その抽出液は 540 mμ に吸収の極大を有するが，この抽出液中には 540 mμ で低い吸光度を有する黄褐色の物質が含まれている。この黄褐色の物質は TBA 試薬で発色したカキをエーテルで処理することによつて完全に除くことができ，もしエーテル処理をしなければ TBA 値は少し高い値を示す。しかしそれをしなくても結果にそれ程重大な影響をおよぼさない。冷蔵庫に貯蔵中の生カキの TBA 値はその貯蔵日数の増加に伴つて不規則に増減するが，加熱処理したカキの場合は，ある一定の誘導期間の後に急激に増加し，この TBA 値の変化は官能検査の結果とよく一致し，誘導期間を過ぎたものには変敗臭が認められた。加熱処理したカキに抗酸化剤を用いると TBA 値は低く品質の良好なことを示すがこれも官能検査の結果とよく一致した。このように TBA 値は加熱処理し冷蔵したカキの品質と密接な関係を有するので品質判定法として用いることができる。(小泉)

塩漬肉を原料とした肉製品の色調の光学的研究 A.L. TAPPEL: *Food Research*, **22**, 479～482 (1957). 塩漬して発色した肉を原料とした市販の各種肉製品の 380 mμ から 700 mμ までの波長域の反射率と，それからアセトン抽出によつてえた heme 色素とさらに牛肉の変性 globin nitric oxide hemochrome（アセトン抽出によるもの）の 380 mμ から 700 mμ までの吸収を測定し比較検討した。供試肉製品の反射率はいづれも 570, 550, 480, 400mμ に反射の極小があり 570, 550, 400 mμ の極小は hemochrome に特異なものであるが，480 mμ のそれは特異なものではない。またアセトン抽出によつてえた heme 色素の吸収極大はいづれも約 560, 540, 480, 390 mμ にあつて変性 globin nitric oxide hemochrome のそれと一致した。このように塩漬して発色した肉を原料とした肉製品の色調の光学的性質は変性 globin nitric oxide hemochrome として特徴づけられる。また，これら肉製品は 480 mμ に吸収の極大あるいは反射の極小を有するが，これは nitric oxide hemoglobine, nitric oxide myoglobin, あるいは単なる nitric oxide heme や hematin にはなく，肉製品に特異なものであることがわかつた。(小泉)

雑　　　録

○ 6 月 理 事 会

1. **開催日**　昭和 34 年 6 月 26 日
2. **場　所**　東京水産大学会議室
3. **出席者**　田内会長，外 14 名
4. **議　事**
   a. 学術会議第 5 期会員選挙推薦候補者の決定について。
   上記の件につき各支部に立候補者，および立候補してもらいたい者の選出を依頼し，これを一括して全会員に通知し投票を行つた。その結果全国区では森高次郎氏と猪野峻氏が，また地方区では北海道区より犬飼哲夫氏が，本学会推薦候補者に決定した。
   b. 農学運営委員会報告
   来年度農学大会におけるシンポジウムのテーマについて。
   c. 海外会員の会費の改正案について。
   海外には年間 5 ドルで会誌を購入する者があり，本会事務局で会誌発送の便をとつてきたが，これを普通会員（会費 5 ドル）と団体会員（会費 10 ドル）に整理するための会費案が検討された。
   d. 入会承認　個人 15 名，団体 1。
5. **渉外関係**
   a. 日本大学農獣医学部より同学部の学術研究報告との交換申込がありこれを了承した。

正　誤　表

Vol 24, No: 12.

頁		誤	正
984	上 11 行	$\mu=0.1N$	$\mu.N=0.1$
985	要約 iii	〃	〃

会　　　告

数理資源学関係標準術語および記号について。

ローマの FAO より表記の件につき会員に周知させるよう，栗田　晋氏を通して依頼がありましたのでお知らせ致します。

A Standard Terminology and Notation for Fishery Dynamics

By

S. J. Holt
Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome

J. A. Gulland
Fisheries Laboratory, Lowestoft, England

C. Taylor
U.S. Fish and Wildlife Service, Woods Hole, U.S.A.

and

S. Kurita
Tokai Regional Fisheries Research Laboratory, Tokyo

Introduction

In view of the rapid increase in publications dealing with various aspects of fishery dynamics, the need was recognized at the Special Meeting held by the Research and Statistics Committee of the International Commission for the Northwest Atlantic Fisheries (ICNAF) at Biarritz in March 1956, for standardization of the mathematical symbols for the most commonly used quantities. The basis for discussion was a review prepared by GULLAND (1956, 1958); a system of notation was proposed, and provisionally accepted by the Commission at the 1956 Annual Meeting for use in its publications.

The proposals were next communicated to Dr. Susumu KURITA, of the Tokai Regional Fisheries Research Laboratory, who convened a small group of Japanese scientists to consider them. The group, consisting of: Mr. KURITA (Chairman), Mr. Takeyuki DOI, Mr. Syoiti TANAKA, Mr. Shigeichi HAYASHI (Tokai RFRL), Mr. Ichiro YAMANAKA (Japan Sea RFRL, Niigata) and Mr. Nobuhiko HANAMURA (Hokkaido RFRL, Yoichi), reported its discussions in a paper (KURITA, 1957) submitted to the Joint Scientific Meeting of the International Commission for the Northwest Atlantic Fisheries, the International Council for the Exploration of the Sea, and the Food and Agriculture Organization of the United Nations at Lisbon, May/June 1957. Consideration of this document led the meeting to prepare a report on the matter and to recommend: "that this report be brought to the attention of the Japanese committee, who should be invited to forward their comments to a group consisting of Mr. TAYLOR (ICNAF), Mr. GULLAND (ICES) and Mr. HOLT (FAO). Any change

Terminology and Notation for Fishery Dynamics

Symbol	English definition	Terminology: English	Terminology: Japanese	Terminology: German
N	Total number of fish in stock	Stock number	Sigen-bisû	Stückzahl der Fische eines Bestandes
P	Total weight of fish in stock	Stock biomass	Sigen-zyûryô	Gesamtgewicht der Fische (Biomasse)
C	Total number of fish in catch	Catch in number	Gyokaku-bisû	Fang in Stückzahl
Y	Total weight of fish in catch	Catch in weight	Gyokaku-zyûryô	Fang in Gewicht
Z	Instantaneous total mortality coefficient $= -dN/Ndt = F + M$	Total mortality coefficient	Zengensyô-keisû	Exponentieller Koeffizient der Gesamtverluste
F	Instantaneous coefficient of mortality caused by fishing	Fishing mortality coefficient	Gyokaku-keisû	Exponentieller Koeffizient der fischereibedingten Verluste
M	Instantaneous coefficient of mortality by (natural) causes other than fishing	Natural mortality coefficient	Sizensibô-keisû	Exponentieller Koeffizient der natürlichen Verluste
R	Number of fish entering the exploitable phase of a stock in a given period	Number of recruits (Annual) recruitment	Kanyûryô	(Jährlicher) Nachwuchs des befischten Bestandes (Stückzahl)
l	Length of a fish	Fish length	Taityô	Länge
w	Weight of a fish w (stock) $= P/N$ w (catch) $= Y/C$	Fish weight	Taizyû	Gewicht
t	Time, either absolute or in terms of life-span of fish, thus:		Zikan	als Index: Wert eines Parameters zu einer bestimmten Zeit
t_r	Age at which fish are recruited to fishable stock and	Age at recruitment	–	Nachwuchsalter, mittleres Alter der Fische eines Bestandes beim Eintritt in den Fangbereich
t_c	Age at which fish are first liable to capture by the fishing gear in use	Age at first capture	–	Mindestfangalter, mittleres Mindestalter der fangbaren Fische
l_c	Length of fish at age t_c	Length (size) at first capture	–	Mindestlänge fangbarer Fische
w_c	Weight of fish at age t_c	Weight at first capture	–	Mindestgewicht fangbarer Fische
l_r	Length of fish at age t_r	Length at recruitment	–	Mittlere Länge der Fische beim Eintritt in den Fangbereich
w_r	Weight of fish at age t_r	Weight at recruitment	–	Mittleres Gewicht der Fische beim Eintritt in den Fangbereich
X	Fishing effort. This symbol should be used only if no ambiguity will arise with statistical notation in this context; otherwise the following notation is to be preferred, and used in any case when distinction is to be made between uncorrected fishing effort statistics, as recorded, and the *effective overall fishing intensity* computed from them	Fishing effort	Gyokaku-doryokuryô	Fischereiaufwand
g	Fishing effort as recorded	Uncorrected fishing effort	–	Fischereiaufwand, Befischungseinheit (ungewogen)
f	Weighted mean fishing effort per unit area, expressed in standard units and calculated with weighting factors equal to the density of fish in each area	Effective overall fishing intensity	–	Gewogene Befischungsintensität (Fischereiaufwand/Gebietseinheit gewogen nach dem Einheitsfang als Ausdruck für die Verteilung der Fische)
S	$\exp(-Z)$	Fraction surviving (Mean) survival rate	Seizan-ritu	Prozentsatz der Überlebenden
–	$1-S$	Mortality rate	Zengensyô-ritu	Sterblichkeitsrate
E	$(1-S)\,F/Z$	Exploitation rate or Unconditional fishing mortality rate or	Gyokaku-ritu	Fischereibedingte Todeserwartung
	$(1-S)\,F/Z$	Expectation of death by capture		
D	$(1-S)\,M/Z$	Unconditional natural mortality rate or Expectation of death by natural causes	Sizensibô-ritu	Naturbedingte Todeserwartung
q	F/f	Catchability coefficient	–	Einheitsfang, Ertrag je Befischungseinheit
–	Y/f, C/f, Y/g, C/g	Catch per unit effort	–	
Suggested suffixes:				
i or x	Year-class		nen	Jahrgang, Jahresklasse
j or n	Age-group		nenrei	Altersgruppe

from the Biarritz notation agreed by this group should then be placed before the first convenient meetings of ICNAF and ICES with the strong recommendation that the revised notation should be adopted by all workers in the respective organizations. Meanwhile the group should bring the proposed notation to the attention of workers in areas other than those mentioned above and should take steps to obtain its adoption by other International fishery organizations."

The actions suggested have been taken and the 45th Statutory Meeting of ICES at Bergen 1957, recommended the adoption by its member countries of the notation as finally amended. We believe the result of this exchange of views and ideas is substantial agreement among interested scientists in countries conducting research on the dynamics of fish populations on a notation which, although not free from logical defects, nor conforming wholly with any other commonly used notation, can nevertheless be adopted for the greatest convenience of research workers throughout the world without necessitating complete change in the practices of any one group.

Our recommendations are being made known not only to international fisheries councils and commissions but also to the editors of periodicals publishing papers on fishery dynamics, with the request that they bring the proposals to the attention of their contributors and readers. Just as most journals will accept only contributions written in one of a specified group of languages, it may be that editors will find it possible either to use the standard notation throughout or at least to make it a condition of acceptance of an offered contribution that, if the standard forms are not used, all terms and symbols be precisely defined. This would make it possible to reduce, by omission of such definitions, the texts of papers in which standards are used.

English was the working language of the Biarritz and Lisbon meetings so that symbols we recommended stood for concepts expressed in that language. Work has, however, begun in preparing lists of equivalent terms in other languages. The Japanese group referred to above submitted to the Lisbon meeting a list of Japanese equivalents, and Drs. G. Hempel and D. Sahrhage have recently prepared, in collaboration with Professors A. Bückmann, J. Lundbeck, and A. von Brandt, a list of terms in German. They have kindly agreed that extracts from their list should be used here, and in the following table the standard symbols are therefore accompanied by equivalent terms in three languages. Steps are being taken to have equivalent lists drawn up in other languages used in international publications, particularly French, Russian, and Spanish. Definition of the derived quantities is made without reference to language by expressing their relations with the fundamental quantities by algebraic formulae.

Estimates of quantities may be symbolized by use of lower case type, except for fishing mortality coefficients and number of fish in stock, when ambiguity might be created with effective fishing intensity, and age-group numbers respectively. Alternatively, the common statistical practice of using a circumflex accent to indicate an estimate is recommended.

Lastly, mention should be made of typography and the units in which quantities are expressed. It seems to be preferable to print symbols for quantities in italics, reserving roman type for units of measurement thus: –

$$Y = 8{\cdot}3 \times 10^9 \text{ g}$$

This is becoming common practice. We would draw attention to the article in *Science* (D.R., 1954), which proposes standards for the formation of symbols

for units which might well be adopted by fisheries workers (see appendix), and we would end with the plea that, at least in publications of an international nature, the centimetre/gramme/second system of units should be used whenever possible as the basis for defining derived units, and for expressing results of research.

References

D.R., 1954. "Symbols for units of measurement". Sci. N.Y., **120**: 1078–80.

GULLAND, J. A., 1956. "Notations in fish population studies". Contribution 2, Working Party No. 3 (Population Dynamics), ICNAF Spec. Meet. Commit. Res. and Statist., Biarritz, France, March 1956. (Mimeogr.)

GULLAND, J. A., 1958. "Notations in fish population studies" (abstract only) *in* "Some problems for biological fishery research and techniques for their solution". Symposium held at Biarritz, France, 1.–10. March 1956. Spec. Publ., ICNAF, 1. (In press.)

KURITA, S., 1957. "A plan for standardisation of terms and notations in population analysis". Conclusions of the Special Committee which met in Tokyo, on 4. December 1956. Paper 6, Joint Scientific Meeting of ICNAF/ICES/FAO, Lisbon, Portugal, May 1957. (Mimeogr.)

Appendix

Proposed rules for construction and use of symbols for units of measurements (adapted from D. R., (1954)).

1. The symbol preferably should consist of two or three letters and never more than four.

2. The symbol preferably should consist of the first two or three letters of the name of the unit.

3. Preferably there should be only one symbol for a particular unit.

4. Periods (full points), should be omitted from symbols (with the exception of "in." for "inch").

5. The symbol for a combining form denoting a multiple or sub-multiple should be a single letter, thus "k" for "kilo-"

6. Symbol for the unit should be set in roman type.

7. Abbreviated unit symbols should be used only when they are preceded by a numerical value, a symbol for the quantity, or when they appear in headings of tables or crowded text, in which cases the unit symbol is enclosed in parentheses.

8. Standard signs should be used to indicate all mathematical operations with unit symbols, thus division should be indicated by a solidus, a negative exponent or shown in the ordinary fractional form, but the symbol "p" for "per" should not be used, thus: "C/F" or "C.f^{-1}" are preferable to "C.p.u.e." or "Cpf" for "catch per unit effort".

Hyphens should only be used to separate parts of a single unit symbol and not to indicate multiplication, thus: "ST ton hours" is preferable to "S/T ton-hours" for "the product of tonnage and hours fished by steam trawlers".

会誌 論文集 合本用ファイル (B5判) 実費頒布御通知



水産学会誌1年分を簡単に製本出来る。

昭和23年度 (14巻) 迄は1冊に2ヶ年分が入ります。

種類は厚さ 4.5 cm と 6 cm の2種類あります。

冊誌を傷めず保存できる。

穴をあけず，糊も使わず合本出来る。

中の何れでも取外しが簡易。

頒価 ¥120 〒 ¥20

御希望の向は代金を添え日本水産学会事務局へ御申越下さい。

●学会所定原稿用紙価格　金 100 円

昭和三十四年七月二十日　印　刷
昭和三十四年七月二十五日　発　行

第二十五巻　第三号

本号定価 140 円
(送料別)

編集兼発行者　久保伊津男
東京都港区芝海岸通り6丁目　東京水産大学内

発行所　日本水産学会
東京都港区芝海岸通り6丁目　東京水産大学内
振替口座　東京　59529番
電話 (45) 2200番

印刷者　笠井康頼

印刷所　株式会社　国際文献印刷社

発売所　株式会社　国際文献印刷社
東京都新宿区山吹町184
電話 (34) 7446

隠岐島周辺におけるスルメイカの漁況学的研究—III. 表層流が漁場形成におよぼす作用について*

児　島　俊　平

(1959 年 4 月 30 日受理)

FISHING CONDITIONS FOR SQUID OFF THE OKI ISLANDS—III. EFFECT OF THE SURFACE CURRENT ON FORMATION OF FISHING GROUNDS

Shumpei KOJIMA**

Tremendous numbers of the squid, *Ommastrephes sloani pacificus* STEESTRUPS, occurring during October to following March, have made the water around the Oki Islands one of the most important fishing grounds for them in the Japan Sea. With a view to elucidating mechanisms through which their shoals emerge into particular areas, the landing statistics by set nets for the 1950–'51 to 1958–'59 seasons (Table 1) have been examined in association with the data of tagging experiments and oceanographical surveys.

1) The data relevant to drift bottles recovered and drift buoys traced in 1955 indicate that all the surface currents around the southern mouth of the Oki Straits flow westward heading to Nakanoshima and Urago Bay (Fig. 4). Points of the bottle recovery coincided with those localities where tagged squids were recaptured. While some of those places have provided favorable sites for set nets particularly with a great concentration of the animal, the others are valuable grounds for angling boats aiming at the squid (Table 1, Figs. 1 and 3).

2) However, a check on Figs. 1 and 4 will reveal that some of the points to which drift bottles were often driven do not always produce successful catches even when they are located close to a favorable fishing ground. Because a water boundary or a counter circulation existing in the areas seems to separate those waters from the surface currents which bring the squid into the fishing grounds (Fig. 5).

3) From previous studies and commercial fishing practices it has been inferred that the squid diurnally repeats vertical migration, emerging from the bottom layer in the early evening and sinking down there at dawn. A postulation proposed here in regard to their horizontal migration is that shoals of the squid, after floating up to the surface, are transported from area to area along with the movement of water masses more possibly than by their own locomotion.

4) During autumn to winter thousands of the squid would often concentrate in Urago Bay. As the concentration occurs always at midnight in the bay shallower than 50 m., they seem to take the rest in a deeper water outside the bay during the daytime.

5) Comparing the catches which accrued to Urago Bay and Nakanoshima during the 1955–'56 and 1956–'57 seasons, one may see that the fishing had success or failure alternatively at one of the places and in one of the seasons (Fig. 2). Those phenomena are possibly attributed to the surface current which, changing its direction from season to season, brings a greater number of squid to either one of the places.

6) Numbers of drift bottles released off the Oki Islands were recovered at points scattering over the coastal regions of Japan. According to Fig. 5, which combines these points with an annual average catch of squid and depth contours of these regions, an essential con-

* 島根県水産試験場業績

** 島根県水産試験場 (Shimane Pref. Fish. Exp. Stat., Setoshima, Hamada, Shimane)

dition commonly applicable to the coastal regions presenting a favorable fishing ground for the squid is that a region should be provided with the 200 m. depth contoure drawing close to the coast and with the surface current heading ashore.

7) Much remains to be solved in regard to detailed mechanisms inducing the squid to migrate vertically as well as horizontally. It may be a first approach to the questions to determine factors responsible for diurnal movements of the squid.

本報では表層流とスルメイカの漁況，並びに資源の補給関係について若干の知見をえたので報告する。

方法および材料

調査した場所は，スルメイカ漁場を含む隠岐島の全沿岸にわたつた。調査の方法は 1950 年から '59 年にわたり，スルメイカを数地点から標識放流するとともに，同時に環境条件として表層の海流を測流竿や海流瓶によつて調べた。漁獲の資料は総て漁業協同組合の台帳に基づくが，日々の漁獲状況については人為的要因の影響をなるたけさけるため定置網の記録により，一本釣その他の資料は漁場位置の参考程度に止めた。

調査の結果

1. 漁場と漁況の概略

Fig. 1 で明らかなように前島沿岸にはイカ定置網が集中しており，島後沿岸はイカ一本釣が操業の主体をなしている。



Fig. 1. 隠岐島周辺におけるスルメイカ漁場
Fishing grounds for the squid off the Oki Islands.

Legend

- Squid fishing grounds for pole-and-liners.
- Site of set net.
- Locality where the squid occurred in crowds.
- Water unfitted for squid fishery.

一本釣: 冬イカ初群の来游は年によつて遅速があつて一定しないが，大体 11 月上旬から下旬にかけて島後北端の白島東沖合で漁業がはじまる。漁場は漁期の進展とともに急速に東沿岸を南下して，11 月中旬乃至 12 月上旬以降は島後の西郷港 1～3 浬沖合から島前の沿岸にかけて 3 月まで定常的な漁場を形成する。盛漁期に入ると西郷港の白崎から東に出漁する船はない。

南沿岸の加茂，蛸木，津戸港のものは南沖合に出漁するが，慣習による漁場は加茂港から約 2 浬沖合の沿岸漁場（隠岐水道の大森島と冠島を結ぶ線上で白崎と島前の知々井岬につらなる第 1 漁場帯），および約 4 浬沖合の中間漁場（大森島西端と星の神島を結ぶ線上で島前の木樽口におよぶ第 2 漁場帯），同じく約 8 浬沖合の沖合漁場（松島西端と冠島を結ぶ線上で木樽口におよぶ第 3 漁場帯）に出漁する。しかし各漁場とも同日に好漁することは甚だ珍らしく，一方が良ければ他方が不漁であることが普通である。

島前沿岸の漁場は知々井岬と松島南端を結んだ線から内側の中の島沿岸で浦郷湾内にいたる距岸 0.5～3 浬である。沖合の第 3 漁場帯に出漁するものはない。浦郷湾内も漁場となるが，それに連続している中の島と西の島，知夫里島とのなす水道，並びに知々井岬と島後の津戸港を結ぶ隠岐水道の北側，および知夫里島の南側沿岸で波加島以西の海域では，イカ群の来游はほとんどみられない。そして，知夫港の総ての船は波加島を越えて中の島沿岸へ出漁している。

定置網: 島前 12 統，島後 2 統，計 14 統の瓢網[1]が敷設されている。これらについて資料のある 1950 年から 1959 年にわたる 9 ケ年間の漁獲高をみると，中の島沿岸の漁場が他の水域の漁場より優れているようにみられる (Table 1)。島後の蛸木（網番号 13)，西郷 (14) は '56 年より試験的に実施しているが，漁獲高は西の島沿岸，浦郷湾内の網 (1～12) に比べて極めて僅少で 10 ton 前後であつた。

Table 1. スルメイカ定置網の年別漁獲状況 (1950～'59)
Set-net catch* of squid by locality and season, 1950–'51 through 1958–'59.
(Unit of amount: metric tons)

漁場及び網番号 Locality and set net number		漁期 Fishing Season** '50–'51	'51–'52	'52–'53	'53–'54	'54–'55	'55–'56	'56–'57	'57–'58	'58–'59
Urago	1	243	188	130	32	76	96	87	182	152
〃	2	367	256	390	111	89	129	130	259	228
〃	3	212	86	87	85	68	75	59	146	109
Chibu	4	200	106	143	87	87	102	106	147	132
Saki	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
〃	6	337	214	402	143	185	221	151	274	173
〃	7	264	551	397	171	101	167	86	269	170
Minami	8	—	60	78	85	68	90	50	23	—
Chichii	9	—	—	359	86	59	126	48	131	—
〃	10	—	—	—	53	34	—	30	83	—
Toyoda	11	181	—	272	121	129	237	166	176	30
Mita	12	101	—	133	62	73	87	36	—	—
Takoki	13	—	—	—	—	—	—	16	11	—
Saigo	14	—	—	—	—	—	—	2	3	1

* Of the amount indicated 10 to 15 per cent includes fishes other than the squid.
** The fishing season continues from October to following March. Heavy numerals represent the greatest catch to the third during every season.

これらについて地区別の日々入網状況を検討すると，浦郷湾内と外海漁場（中の島沿岸）における入網傾向は相反していることが判明した (Fig. 2)。'55 年には 11 月 20 日から 12 月 10 日にわたり外海の崎 (5, 6, 7)，豊田 (11) に相当の入網があり，1 日 20 ton におよんでいるが，浦郷湾 (1, 2, 3) では 375 kg

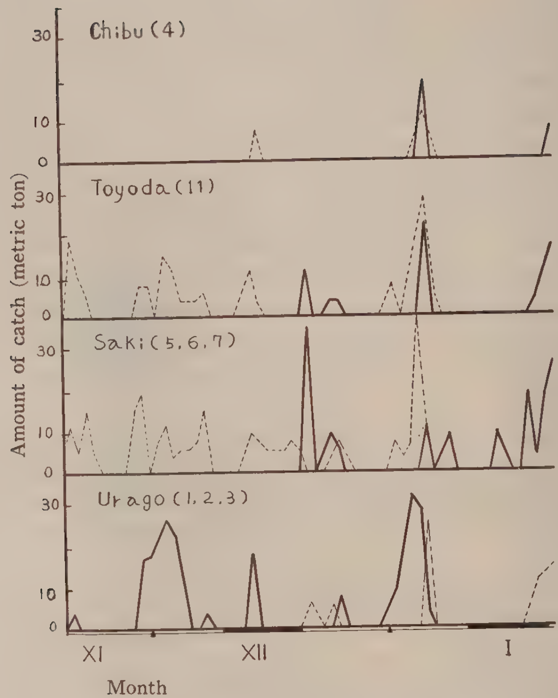


Fig. 2. 浦郷湾と外海の定置網における日別漁獲状況の相違（1955～'57）
Daily catches of the squid by set nets within and without Urago Bay.
Legend
---- For the 1955–'56 season.
—— For the 1956–'57 season.
Numerals enclosed in parentheses represent set nets at the sites corresponding to those in Fig. 1.

以上の入網は皆無であつた。'56 年は前年と反対に 11 月 20 日から 12 月 10 日にわたつて浦郷湾（1, 2, 3）が 1 日 26 ton におよぶ豊漁をしたが，外海では 375 kg 未満の入網に過ぎなかつた。この傾向は漁期を通じて認められる。

寄り現象*: 9 月から翌年 3 月にわたり，スルメイカが接岸の場合に陸岸に向つて殺到して数千尾が上陸する現象がある。浜部，清水[2),3)]によれば浦郷湾内に 7 カ所，西郷湾内に 1 カ所ある（Fig. 1）。発現場所の地形的な特徴は，その場所がほぼ定置網型を形成していることである。しかしながら，中の島と西の島とのなす水道の海岸は同様の条件に恵まれているが寄り現象は全くみられない。

2. 標識放流による調査

1958 年までになされた標識放流は 12 月から 3 月の間に島前沿岸で浜部，清水[4)]，児島[5)]が 5,700 尾，島後沿岸で石井[6)]，児島[5)]が 2.050 尾を実施した。再捕結果は Fig. 3 のごとくであるが放流場所別に再捕状況を検討すると，つぎの通りである。

浦郷湾（Fig. 1 における 2, 3）で朝放流したものは翌朝知夫（4）に大量入網する[4),5)]。また翌日から浦

* 同現象は対馬の黒島周辺にも多数みられる。

郷湾の第 1, 2, 3 定置網で相当数の再捕があるが，特に湾内の第 2, 3 定置漁場に多かつた。2 日以上経過すると集団的入網は皆無である。しかして，浦郷湾で放流したものは浦郷湾で再捕され，中の島沿岸で放流したものは中の島沿岸で再捕される傾向がみられる。また外海での再捕状況は相当沖合であり，中の島沿岸における再捕分布点は崎港以南の沿岸に局限され，以北にはおよんでいない。



Fig. 3. 放流地域別の標識放流と再捕状況
Points where tagged squids were released or recovered.

Legend

Releasing points		Recovery points
⊙	Urago Bay	●
○	Saki	○
⊕	Saigo	⊕

中の島 (6, 7) で同じく放流したものは，中の島沿岸から島後の西郷港白崎を結ぶ第 1，第 2 漁場帯において普遍的に再捕されており，最大距離は 3 日後に 15 浬東方の白崎沿岸で再捕された。最も再捕率の高い場所は放流地先の崎港周辺であるが，浦郷湾内での再捕は極めて僅少であつた。

島後 (西郷港 1～3 浬) での作業[5] は漁期を失し，一本釣で少量ずつ放流したので再捕尾数は僅か 2 尾(八束郡多古鼻，隠岐島前) に過ぎなかつた。この方面における水域のスルメイカの移動について，石井[6] は日没から前半夜にかけて平均游泳速力が約 1 ノットで第 1～第 2 漁場帯に沿つて西方へ移動することを述べている。

3. 測流竿，海流瓶による調査

1955 年 6 月隠岐島周辺を距岸 1 浬から 8 浬にわたつて海流瓶を 47 点で 470 本，測流竿[7] は 49 点から追跡した (Fig. 4)[8]。

海流瓶の拾得率は島沿岸 17%，島外 29%，計 46% の高率を示した。潮上の島前沿岸並びに浦郷湾内で投入したものが高率で，漂着状況はほとんどが中の島沿岸に漂着しており，島後周辺で投入したものは総て島外で拾得された。

測流竿による調査では，島前の北西岸に沿つて北上する 5 浬以内水域の沿岸流は隠岐水道の北沖合に生起する環流により水道へ急傾斜して流入し強勢となつて南流するが，西郷沖合からの西流に圧迫されて水道南側出口の海域では一括して中の島沿岸に向け流れている。浦郷湾では湾奥に向つて流れているが，西の島と中の島とのなす水道および木槽口の知夫里島沿いに外海へ流出する関係から，水道の中間と知夫里島の波加

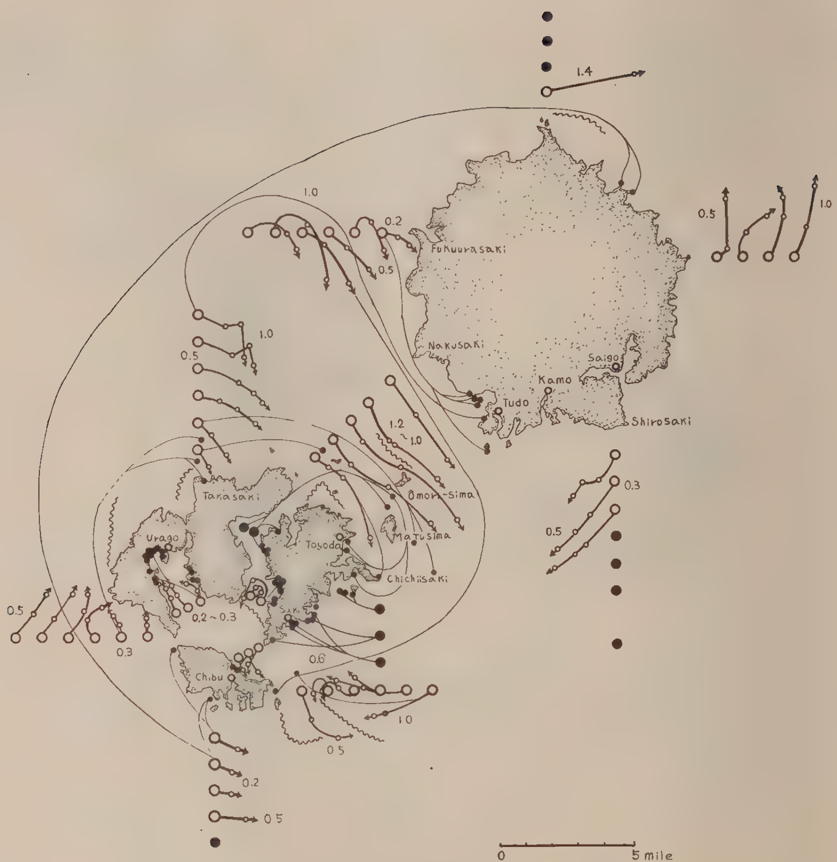


Fig. 4.　測流竿の追跡並びに海流瓶の漂着状況

Tracks of drift buoys and positions of drift bottles released or recovered.

Legend

○ Where both drift buoys and bottles were released.

● Where drift bottles were released.

• Where drift bottles were recovered.

~~~ Water boundary.

島沖合に環流を生起している。知夫里島南沿岸は東流するも前述の西流の影響を受けて弱く，波加島東沖合の環流が両流向の潮境のようであるから北緯 36 度線より内側は西流すると認められる。

宇田[9]が北緯 35 度 58 分 9 秒，西経 133 度 11･分 5 秒（波加島E 5 浬）において実施した測流結果によると，最強流は東流 1.4 ノット，西流 0.8 ノットを示し，残余の海流は下層に降るとともに表層の東流より南東流に回転し流速が減少してくる。潮流は比較的規則正しく高潮時に西流し，低潮時には東流する傾向が認められた。

漁況と海況との関係

海流瓶，測流竿の漂流を決定するものは，もちろん水の流れと風との作用であるが，ほぼ定常的な流動を反映しているとみてよい[10),11)]。したがつて海流瓶がある地点に多数漂着することは，定常的な本流の接岸度合と海岸地形によるもので一応流れの到達する場所と考えられる。

隠岐水道南出口側沿岸の表層流はすべて西流し，最終的には島前中の島沿岸および浦郷湾内に流入することが海流瓶や測流竿の調査から推察される（Fig. 4)。しかしながら，前述の海流瓶や測流竿の調査はスルメ
~~~

イカの漁場に関係なく等間隔に実施したものであるが，それらの漂着場所が密集している地点は，その大多数が従来からの「寄りイカ」現象の発現地であり，定置網や一本釣の好漁場であつて，漂着の多寡は定置網の漁場の優位性並びに標識放流魚の再捕状況に一致する結果をえた (Fig. 3)。

スルメイカは昼間深層の滞留場**に游泳しているが，夜間には上層へ浮上群泳し，時には陸岸に数千尾が上陸するなど，著るしい週期活動を示すことが知られている。[2),6),12)13)] この日週期活動の要因については実験は困難であるが，照度の日週変化や季節的変化[6),12)]に関係していると考えられる。スルメイカは薄暮黎明時の照度の変化に伴なつて浮上沈下する行動を行なつていることは使用する漁具漁法によつて推定されるところであるが，浮上後の接岸行動は石井[6)]が日没から前半夜にえた再捕記録および壺状の浦郷湾内（一本釣，定置網とも 22 時以降にならないと釣獲，入網はみられない）に大量来游することからも，浮上後のスルメイカは集団となつて移動するものと考察される。標識放流地点が異なると再捕される場所も大いに異なつている。例えば崎港，西郷港沿岸で放流したものは第 1 〜第 2 漁場帯で，浦郷湾内でのものは第 3 漁場帯と中の島沿岸の崎港以南に主として再捕されている。このことは，地区別の相反した漁況変動 (Fig. 2) および漁民の慣習漁場から推察されるとおり，それぞれのスルメイカ群の行動が沿岸，中間，沖合の流れにしたがつて大別されているのに原因するものと考えられる。浦郷湾内で放流したものが崎港地先に相当混合するのは，後半夜に湾口の木櫓ロ西岸沿いに流出する流れに乗つて移動する途中，外的条件によつて比較的沿岸へ沈下した群[14)]によることが，漁場における釣獲時間が極く沿岸にもかかわらず特別に早いことから推察される。これらの点から考察すると，水深 70m 附近の水域がスルメイカの滞留としての最低条件を満しているものと想定される。しかして 50m 以浅の浦郷湾では魚群の来游時間から推して滞留は考えられない。

海流瓶の漂着場所が密集している地点が必らずしも好漁場とは限らない。その好例として，中の島と西の島のなす水道附近があげられる (Fig. 4)。また，漁場の隣接海域でありながら全く漁場となつていない場所は，隠岐水道で知々井岬から津戸港の以北海域，知夫里島の北と南側沿岸，加茂湾沿岸である。これらの海域の共通点を模式的 (Fig. 5) に示すと，その水域の表層流が環流または潮境によつて漁場の表層流とに連

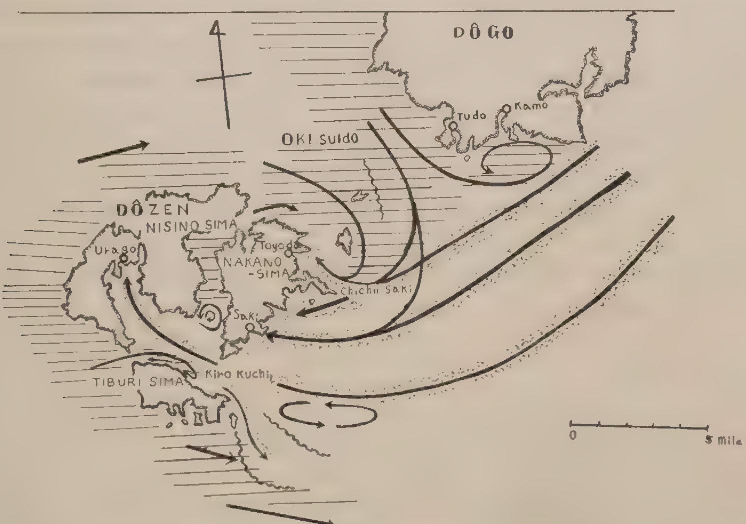


Fig. 5. 漁場の海洋学的模式図

Schematic diagram of the surface currents in the vicinity of the Oki Islands.

Legned

← Current direction. 　(stippled) 、Squid fishing ground.

---- Water boundary. 　(hatched) Water unfitted for squid fishery.

** 漁民は漁場の探索法として 15〜16 時頃水深 60〜70 尋の線に行き漁具を海底より 1 尋位浮かし 2〜3 尾でも釣れるとその場所を動かない。日没になると沢山のイカ群が浮上する。



Fig. 6. 隠岐島から流した海流瓶の漂着状況とスルメイカの漁場

Localities where drift bottles from the Oki Islands were recovered, and regions furnished with favorable topography for squid fishery.

Legend

○ Where drift bottles were recovered.

/// Region where the annual squid catch averages more than 3,750 metric tons.

Region where the annual squid catch averages more than 1,900 metric tons.

—·—·— 200 meter-depth contoure.

続性がみられないか，或いは反対の流向を示していて，スルメイカ群の運搬が切断されている場所に当つている。

隠岐島南側沿岸では潮流が比較的正しく高潮時に西流し，低潮時に東流していることがわかつた。潮流の影響として，島後ではサンマの多い日にはスルメイカが不漁の俚諺がある。当期のサンマ漁場は隠岐海峡の本土側にあるから，サンマは東流時に接岸し西流時にはその逆の現象を示すのであろう。また月齢による高潮時をみると，大潮は一般に朔，望の後 2～3 日にみられるから朔，望月の漁況変動[12]は，月光の照度がスルメイカの活動を促進する因子として作用した結果によることが流向から裏付される。

以上に述べた表層流の漁場形成について普遍性を，こころみに日本沿岸について検討してみよう。Fig. 6 は隠岐島から外部へ漂着した海流瓶の状況と[8]， 1951～′54 年の年間平均漁獲量が 3,750 ton 以上の漁獲府県[15),17]の対比である。漂着状況はもちろん年変動があるが，ここ数年にわたる日本海諸府県沿海の調査[11),16]では大体同様の傾向を示している。漂着場所のほとんどは各府県の主要漁場で，兵庫県北部，京都府経ケ岬，福井県越前岬，富山湾沿岸(石川，富山県)，佐渡島周辺，新潟県の三島郡，西頸城郡，中頸城郡沿岸などである。その附近は秋～冬季に北海道沿岸から，春～夏季に日本海西部沿岸で標識放流したものが，南北移動の過程において多量に再捕された水域[16]である。漂着が多数あつても山形，秋田，福島，茨城県，北海道の日本海側で石狩，留萠沿岸などが主要漁獲県とならないのは，スルメイカの基本的滞留場の目安とみられる 200m 等深線が沿岸から遠距離にあるのが主因と考えられる。元来スルメイカ漁業は小型船による一本釣が大部分を占めている。したがつて，漁場もごく沿岸でなければ成り立たない。そのためにはスルメイカの滞留場の 200m 等深線がなるたけ接岸していることと，滞留場の上層流は沿岸に向つて流れ，浮上したスルメイカ群をさらに沿岸へ運搬する二つの条件が必要だと考えられる[17]。

考　　　察

漁期になるとスルメイカ群が隠岐島南側沿岸に出現してくるが，如何なる機構と経路によるものか判然としていないけれども，日本海における下層冷水との間に密接な関連のあることが考えられる。

隠岐島の漁場では夜間浮上後の接岸行動は基本的に滞留場の表層流に左右され，沖合流が接岸するような場所でないと定置網や一本釣の漁場となりえないこと，さらに長期的移動については，巨視的にみてスルメイカ群は群団自体が甲水域から乙水域というように自主的に移動するのではなく，水塊の移動によつて甲水域から乙水域へと運搬されるものであるとの仮説をここに提示したい。

このように水塊によつて主として運搬されるとするならば，スルメイカを包含する表層水塊というものはスルメイカの常に棲息すると思われる下層水塊それ自体が上昇して表層水塊となり沿岸に近接する場合も考えられるし，また下層の水塊から上層水塊へスルメイカの群団が，刺戟によつて移動することも考えられる。前者の場合は，生態的に問題がないが，後者の場合は水族の行動面からみて問題がある。スルメイカが夜間に下層水塊から異質の表層水塊に移ることは，既存の生活の場から新な異質の場に移ることであるが，

こうした生活圏の転換を容易ならしめるには照度の変化とか内部的な刺戟などが考える。しかし一方において水温とか塩分さらに水圧や水の流向などが，一つの場から他の場に移るのを妨げる大きな障壁になることも考えられる。実際問題として夏から秋漁期には表層と下層の間に 10°C 以上の水温差も珍らしくない場合がある。こうした場合においても下層の滞溜層から表層の水層に浮上する実例があるとすれば，スルメイカの日週的な活動力が棲息場の異質を克服するものであるとしなければならない。試験操業における現実の問題として経験することは，下層の冷水層から表水層に餌や集魚灯などの刺戟によつて，スルメイカ群が 10°C またはそれ以上の差のある表層に向つて容易に上昇することである。このことは今後もつと詳細に調査しなくてはならないが，スルメイカの温感覚と環境さらに行動を調べる上に一つの手がかりである。PARKER ('17)[19] が Metridium marginatum の実験で水温を 23°C → 8°C，または 27.5°C → 21.5°C と急に減少するも週期活動に影響のないことを述べているけれども，スルメイカにおける昼夜の週期的な行動が環境状況によつて，どんなに変化するのかしないのか今後に究明したい問題である。しかしながら，前述のようにスルメイカの行動が水温に制約されることの事実と日週期的な上下運動の存在することから考察して，夜間には光条件が誘発機構[18),19)] として作用し異質の水塊に移ることが容易であると考えられる。

以上縷々述べたが，要するにスルメイカは昼間は下層に沈滞し，夜間に性質の異なる別個の表層水塊により運搬，媒介されるが，また朝方下層水塊へ沈下する行動を繰り返して移動する。したがつて運搬は表層水塊にのみよるから，結果的には海流瓶と同じく一連の連続した水塊に運搬されることになるのと考えられる。いずれにしても，浮上および長距離移動の機構は，スルメイカの日週期活動と環境の問題を明らかにすることが必要である。

要　　　約

隠岐島周辺におけるスルメイカ漁場の生成について，海洋的漁場精密調査と定置網，一本釣の漁況から下記の知見を得た。

1)　隠岐水道南出口側沿岸の表層海流は全て中の島沿岸及び浦郷湾に向け西流するが，潮流は高潮時に西流し，低潮時に東流する。

2)　海流瓶の漂着状況は「寄りイカ」発現地，標識放流魚の再捕状況，優良漁場と一致する。

3)　好漁場の隣接海域でも表層流に連続性が無い場合は，漁場は形成されていない。

4)　スルメイカ群は前半夜に滞溜場より浮上し表層流に運搬され接岸し，後半夜に滞溜場とみられる冷水層に移動するものと推定される。

5)　浦郷湾と中の島沿岸の漁場における漁況的差異は，魚群の滞溜場とその表層流との相違に起因する現象である。

6)　水深 50m 以浅の浦郷湾には漁獲状況から滞溜場がないものとみられる。

7)　漁場生成の条件として，沿岸近くに水深 200m 近くの深みが入り込み，しかも表層流が陸岸方向に向つて流れていることが必要である。

8)　スルメイカ群の沿岸への移動は水塊の移動によつて行なわれるものと考えられる。

終りにのぞみ，終始御高配を給わつた神藤正場長，論文の御校閲をいただいた日本海区水産研究所長内橋潔博士，御教示を賜つた東京水産大学教授宇田道隆博士，日本海区水研浦郷支所長浜部基次技官，ならびに島根丸船員一同に深謝申し上げます。

文　　　献

1)　児島俊平：　隠岐島周辺におけるスルメイカの漁況学的研究—I，本誌，**21**，4 (1955).

2)　浜部基次・清水忠雄：　スルメイカの「寄り現象」について，日本海区水産研究年報，2 (1955).

3)　——・——：　隠岐島におけるスルメイカ調査に関する報告 (i)，日本海区水産研究所浦郷支

所プリント報告, (1957).
4) ———・————: 1950, '57 年度スルメイカ標識放流の結果について, 日本海区水産研究所浦郷支所プリント報告, (1957),
5) 児島俊平: スルメイカ標識放流調査, 島根県水産試験場事業報告, (1958).
6) 石井四郎: 隠岐近海産二番イカ漁業基本調査報告, 島根県水産試験場, (1924).
7) 水産試験場: 海洋調査要報, **46**, pp. 247 (1930).
8) 児島俊平: 隠岐島周辺ならびに出雲海域における海流調査, 島根県水産試験場事業報告, (1958).
9) 宇田道隆: 日本海およびその隣接海区の海況, 水産試験場報告, 7 (1936).
10) ————: 海流勢力の消長について, 日本海洋学会誌, **5**, 2~5 (1950).
11) 笠原昭吾: 1955 年春季日本海北部海域における表層流について, 日本海区水産研究所研究年報, 3 (1957).
12) 児島俊平: 隠岐島周辺におけるスルメイカの漁況学的研究—II, 本誌, **22**, 3 (1956).
13) 諫早隆夫・川上四郎: スルメイカの生殖習性に関する試験, 北水試旬報, 216, 236 (1933).
14) 中尾舜一・田中隆文: 宮入貝の日週期活動, 日本生態学会誌, **8**, 3 (1958).
15) 農林省統計調査部: イカ一本釣漁業漁獲統計図集(昭和 26~27 年分), 農林水産統計資料, 44 (1954).
16) 水産庁: 対馬暖流開発調査報告書 (第 1, 4 輯), (1958),
17) 児島俊平: スルメイカ漁場の地理的条件について, 島根水試月報, 36 (1958).
18) 森 主一: ウミシャボテンの自律日週期活動, 京都大学理学部生理生態学研究業績, 19 (1945).
19) : ウミシャボテンの日週期活動, 動物学雑誌, **55**, 7~8 (1943).

アユの産卵生態—I.

産卵群の構造と産卵行動*

石田力三

(1959 年 5 月 1 日受理)

ON THE SPAWNING OF THE AYU, *PLECOGLOSSUS ALTIVELIS* T. & S.—I.

STRUCTURE OF THE SPAWNING SHOAL AND SPAWNING BEHAVIOUR

Rikizo Ishida**

As to the sex ratio of the Ayu crowding together at the spawning ground, it has been known that in the early period of the spawning season males predominate, while, on the contrary, towards the end of it females predominate. But no attempt has been made to investigate thoroughly the matter.

The present study was undertaken to study this problem. For this purpose, observations were made, on the one hand, on the seasonal changes of the sex ratio in connection with those of the maturity, population size and quantity of eggs spawned at two well-known spawning grounds of Sagami River in Kanagawa Prefecture. On the other hand, the spawing behaviour was observed in detail at artificial spawning beds which were prepared in experimental ponds.

The results obtained were as follows:

1) The proportion of females to the population exhibited marked seasonal changes. The number of males increased gradually from the early period of the spawning season to the height of it, where reaching its maximum. Thenceforth it gradually diminished (Fig. 1).

2) Parallelisms and also high correlations were found to exist between the proportion of male and population size or maturity (Fig. 2, 3). Furthermore the amount of eggs spawned showed a tendency to be largest when the proportion reached the maximum (Table 1).

3) Males, as the gonads matured, crowded together densely at the spawning beds. By this prespawning behavior silts laid on the gravel of the beds were removed. A few attendant females joined the male shoals, thus depositing their eggs. From these observations it would be assumed that the great proportion of males in the height of spawning was ascribed to such a spawning behaviour.

4) During the actual spawning process, much gravel of the beds were moved by fish, thus a circular hollow being formed (Table 3). A high correlation between the amount of the movement of gravel, which seemed to indicate the intensity of the spawning activity, and the quantity of eggs spawned was observed to exist (Fig. 7).

産卵場に集まるアユの♀♂組成をみると，初期には♂が非常に多いが，末期には反対に♀が多くなる傾向がみられることが報告されている[1),2),3)]。同様な現象はウグイ等についても知られているが[4),5)]，これがどんな理由によるものであるかは，いずれの魚種についても明らかにされていない。

著者はこの問題につき，実際の産卵場のアユの産卵群の構造について調査するとともに，池中実験によつ

* 本報告の一部は 1959 年日本水産学会年会で発表した。

** 東京大学農学部 (Fac. Agr. Univ. Tokyo).

て産卵行動を観察し，若干の知見をうることができた。以下にその結果を報告する。

I. 材料と方法

野外調査は1955年および1956年の2ヶ年にわたつて相模川水系で行なつた。まず '55 年 9〜11 月には神奈川県厚木市地先の産卵場で産卵魚の調査を行ない，翌 '56 年 10〜11 月には同県平塚市田村地先の産卵場で産卵魚と附着卵の調査を行なつた。

産卵魚の調査では，まず産卵群の大きさを知るために1時間当りの漁獲尾数を採集時間別に記録した。漁獲法は掛釣りで，漁獲は漁業組合員が行なつた。漁獲した魚体はホルマリンで固定保存し，後日に魚体および卵巣重量の測定を行なうとともに ♀♂ 比を調べた。卵の調査の主眼は発眼卵の割合を求めることにおいた。その方法は産卵場内に選定した2定点から採集した砂礫を 20 等分し，その各部分から等量づつ取つた約 200cc の砂礫に附着していた卵を発眼卵と未発眼卵とに分け，その各々の数を数えた。

池中産卵の観察は飼育したアユを用い，'57 年および '58 年の 10〜12 月に行なつた。これでは特に♀♂の産卵時における行動，群構成に注意した。実験池の詳細は後の項で述べる。

II. 結　　果

1) **♀♂比と体重に対する卵巣重量比**: 厚木産卵場における産卵期およびその前後（9〜11 月）の1時間当りの漁獲尾数の季節的変化，漁獲された♂尾数の総漁獲尾数に対する比（以下 ♂/♂＋♀ で表わす），および体重に対する卵巣重量比（積算重量により，以下 O.W./B.W. で表わす）の調査結果を Fig. 1 に示した。

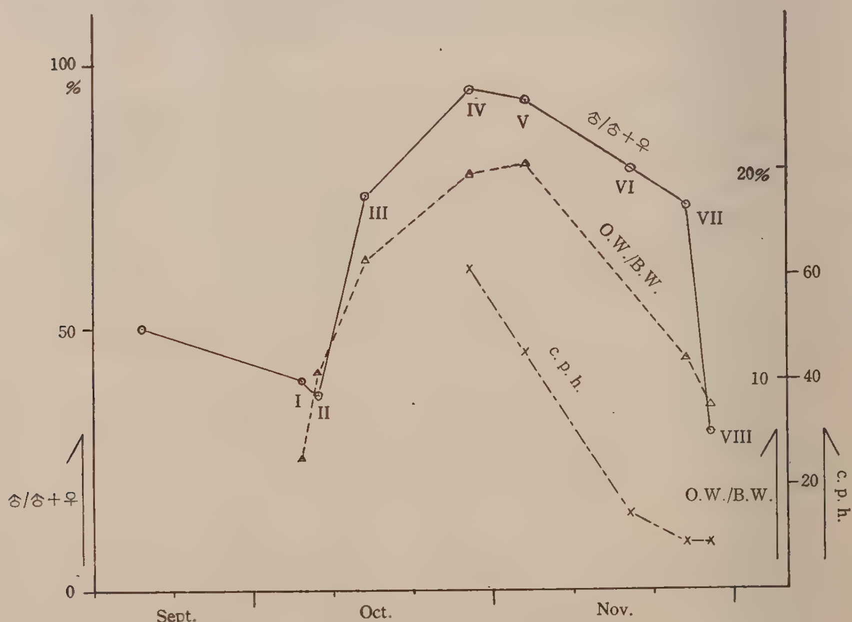


Fig. 1. The seasonal changes in the ratio of the number of males to the catch (♂/♂＋♀), the ratio of ovary weight to body weight (O.W./B.W.), and the catch per one hour (c. p. h.).

* Symboles, Ⅰ-Ⅷ, are common to Fig. 2, 3, 4.

これをみると ♀♂ 比の点では産卵期前には ♀♂ 数がほぼ等しいが，次第に♂が多くなることがわかる。また♂の割合が大きくなるに並行して ♀ のO.W./B.W. も増加することが認められる。さらに ♀ の O.W./B.W. が最大 (Fig. 1 で約 20%) に達した時に ♂ も最も多く， 以後 O.W./B.W. の減少とともに再び少なくなる。 ♂/♂+♀ と O.W./B.W. をそれぞれ縦軸および横軸にとつてプロットすると，両者の間にはほぼ直線的な相関関係があつて (Fig. 2)，相関係数 r も 0.92 できわめて有意である。

熟度の最大期に達したアユの O.W./B.W. は 26% 内外であるという報告があるが[6]，この調査ではその値は 20% を越えることはなかつた。Fig. 2 にみられるように 20% に達した後は減少しているが，これは放卵のためと考えることができる。



Fig. 2. The relation between the proportion of males to the catch (♂/♂+♀) and the ratio of ovary weight to body weight (O.W./B.W.).

2) ♀♂比と産卵群の大きさ: 単位時間当りの漁獲尾数によつて産卵群の大きさが比較できるとすれば Fig. 1 から ♂/♂+♀ と群の大きさの間に併行関係のあることがわかる。両者の関係を Fig. 3 のようにプロットしてみると， ほぼ2次曲線的相関関係が成立ち ($R = 0.98$, $0.01 < P < 0.05$) 群か大きくなるにつれて ♂ の割合が大きくなり，小さくなるにしたがつて ♀ の割合が大きくなるということができる。

3) ♀♂比の変化と産卵状態: 田村産卵場における卵の調査結果を Table 1 に示した。これからわかるように，11 月初期には発眼卵は非常に少ないが中期に 50% に達し，後期にはほとんど発眼卵のみになつている。一方 ♀♂ 比をみると，11 月上旬から半ばにかけて ♂ が最も多くなつている。したがつて，この時期は群も大きく ♀ の卵巣も発達して，産卵が最も盛んであつたと考えられる。

アユ卵は卵発生のほぼ半ばで発眼するものであるから[7]， 水温に大差がないとすれば，日毎の産卵量が次第に増加する時期，すなわち産卵盛期以前には附着卵の大半は未発眼卵であり，盛期に達して以後，日毎の

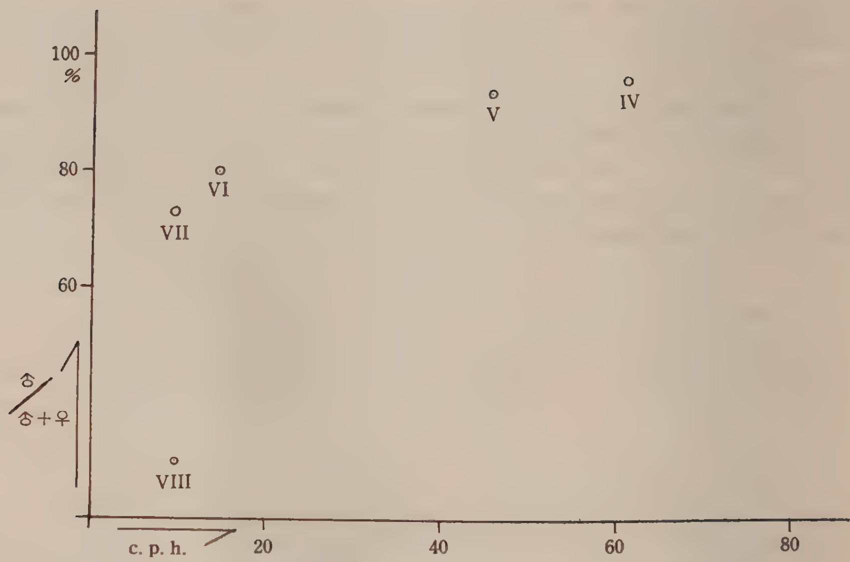


Fig. 3. The relation between the proportion of males to the catch (♂/♂+♀) and the catch per one hour (c. p. h.)

Table 1. The relation between the proportion of males and the ratio of the number of eyed eggs to total eggs.

Date of sampling	Number of individuals caught			Number of eggs sampled					
				St. I			St. II		
	Number of males	Number of females	♂/♂+♀ (%)	a) Number of eyed eggs	b) Number of total eggs	a/b (%)	a) Number of eyed eggs	b) Number of total eggs	a/b (%)
1956 Oct. 24	30	6	83	／	／	／	／	／	／
Nov. 5	16	0	100	0	3	0	6	75	8
〃 12	9	0	100	2	4	50	29	48	60
〃 19	22	5	81	75	148	51	52	62	84
〃 27	0	0	／	154	154	100	0	0	／

* Sampled at Tamura.

産卵量が次第に減少するのにつれて，発眼卵の割合が大きくなると考えられる。田村産卵場の発眼卵の割合の時期変化はこのように考えるとよく説明される。

4）実験池における産卵群の行動: コンクリートの実験池の底の全部または一部に篩い分けた砂礫を入れて産卵床をもうけ，産卵行動の観察を行なつた。実験池は種々の型・大きさのものを使い，産卵床の構造も一定していないが，ここでは主として Fig. 4 に示す池における観察を述べることにする。

実験池にアユを ♀♂ 混合して放すと，最初の数日は ♀♂ ともに池全体を側壁沿いに泳ぎ続ける。この時期には概して上・中層に分布しているが，游泳層は日の経過とともに深くなる。しかし，なお数日は側壁沿いに池全体を泳いでいることが多い。

産卵期に入ると ♀ に比べて ♂ の鰭の緊張が著るしくなるので，容易に ♀♂ を識別することができるが，やがて ♂ はすべて産卵床に集合し，特に凹みまたは側壁沿いの部分に密集するようになる（Fig. 4 の点線内）。この場合に ♂ は著るしい婚姻色を発し，交互に凹み（斜線部）に入り，水底に触れて体を鋭くふるわ

せる。

一方，♀ は産卵床からやや離れた部分 (Fig. 4 の V・VI) に群れ，時に池底の藻類をはんだりしているが，この中の 1 乃至数尾が時どき産卵床に近接する。♀ が近づくと 1 乃至数尾の ♂ が群を離れ，♀ を ♂ の群の中に追いこむのがみられる。このように産卵の行なわれる時期には，♂ のみまたは大部分が ♂ からなる群が構成されていることになる。

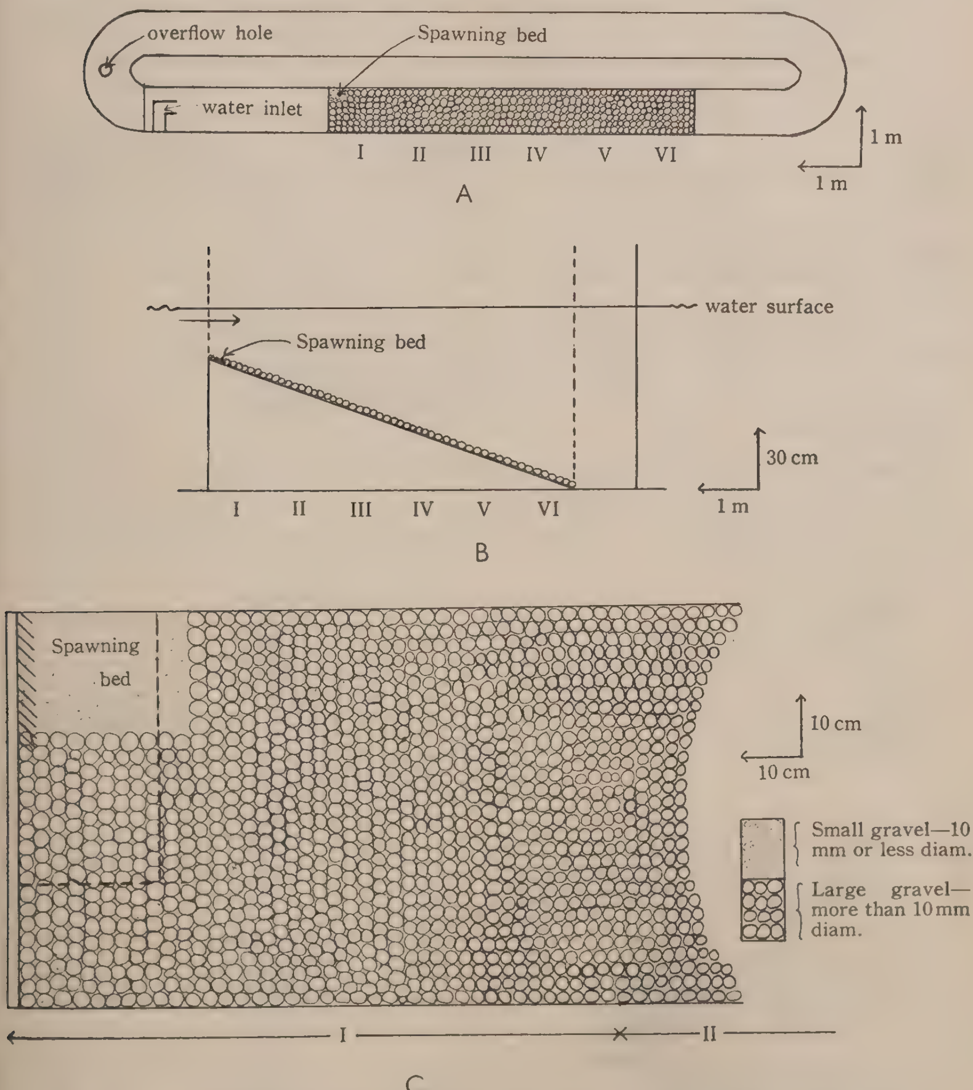


Fig. 4. The first type of the artificial spawning beds prepared in experimental pond. A, the plane figure of the pond; B, the lengthwise section of the pond; C, the plane figure of the spawning bed.
* The arrow shows the direction of movement of water.

天然の産卵場でも，産卵場内に群がるアユとその周辺に群がるものでは ♂/♂+♀ が著るしく異なることがある[2),8)]。Table 2 は，著者が相模川で調査したものの 1 例である。ここにみられるように，産卵場の内と外とで ♂/♂+♀ に著るしい相違があつたり (10 月 27 日)，♂/♂+♀ はほぼ等しくても O.W./B.W. に著るしい相違があつたり (11 月 4 日) するのは，天然でも池中で観察されたと同様の ♀♂ 行動が行なわれ，同様の群構造があることを示すものであろう。すなわち，産卵盛期には♂の著るしく多い群が産卵場に集まり，♀はその周辺に群がつていると考えられる。(なお，10 月 27 日に産卵場内で採集した ♀ の O.W./B.W. では，午前と午後でかなりの差が認められるが，これは午前の採集尾数が少ないためと考えられる)。

Table 2. Comparison of the proportion of males to the catch and the ratio of ovary weight to body weight of the Ayu, found in the spawning ground and in its adjacent region.

Date of sampling	Sampling station	Time of sampling	Number of individs. caught	♂/♂+♀ (%)	B. L. (cm)	Ratio of ovary weight to body weight	
						Number of females	O.W./B.W.
1955 Oct. 27	Spawning ground	11.00～12.30	79	96	12.2 ± 0.4	3	12.7
	Adjacent region	13.00～15.30	17	35	12.3 ± 0.8	11	20.2
	Spawning ground	15.45～17.15	104	95	11.8 ± 0.4	5	23.8
1955 Nov. 4	Adjacent region	10.30～12.30	39	82	12.1 ± 0.6	7	8.2
	Spawning ground	13.00～15.00	36	83	10.8 ± 0.6	6	18.1
	〃	15.00～17.00	98	93	11.2 ± 0.4	7	23.0
	〃	17.00～18.00	76	97	12.0 ± 0.4	2	18.9

* Sampled at Atugi.

5) **産卵行動**: 産卵行動の観察は主として Fig. 5, 6 の池で行なつた。産卵群に集まつた ♂ の群は，先に述べた行動によつて産卵表面に沈積した浮泥を除去する。観察の 1 例をあげれば約 100 尾の ♂ (T.L.(cm) = 13.3 ± 0.3) が 80×4×3 (cm) の 5 ケの凹みに集中じて活動をはじめてから，24 時間内に約 2400 cc の

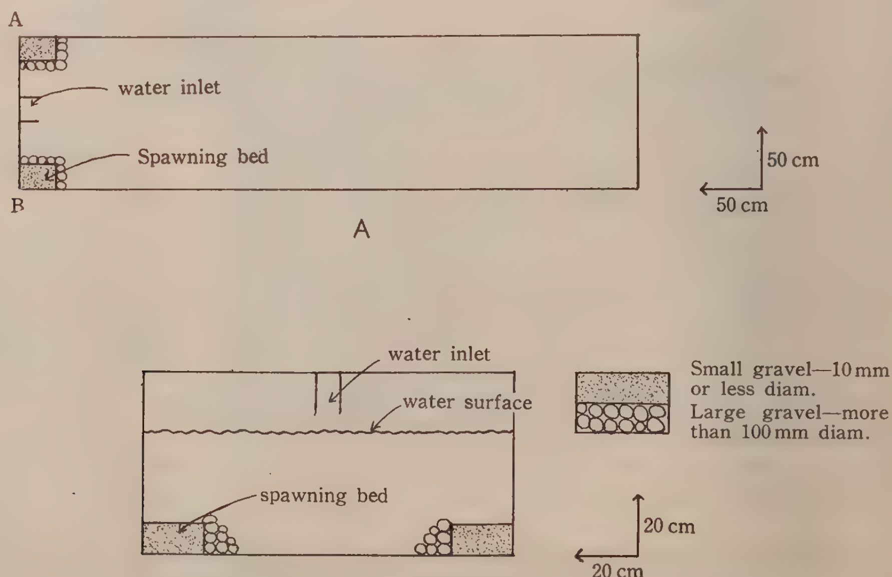


Fig. 5. The second type of the artificial spawning beds prepared in experimental pond. A, the plane figure of the pond; B, the cross section of the pond.

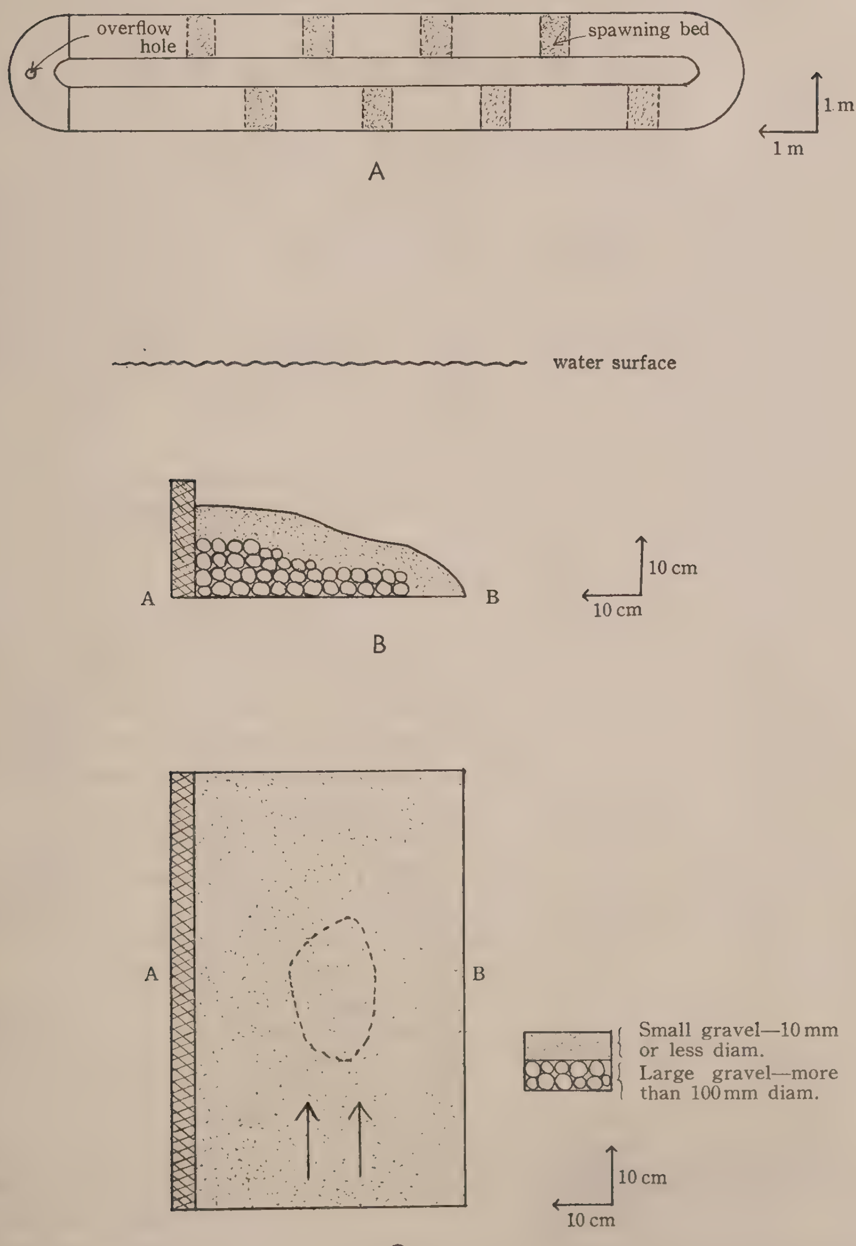


Fig. 6. The third type of the artificial spawning beds prepared in experimental pond. A, the plane figure of the pond; B, the lengthwise section of the spawning bed; C, the plane figure of the bed.
* The arrow shows the direction of movement of water.

Table 3. The relation between the size of hollows formed on the spawning beds by fish and the quantity of eggs spawned.

No. of series	No. of experiment	Date of spawning	T.L. (cm) (female)	Size of hollows: Length[1] (cm)	Winth[2] (cm)	Depth[3] (cm)	Vol.[4] (cc)	Number of eggs spawned, Depth of the gravel: 0~2 (cm)	2~4 (cm)	4~6 (cm)	6~10 (cm)	Number of total eggs	Remarks
		1958											Number of males,
I	1	Nov. 23–24	16.1	22.5	15	2.5	141	1134	812	114	135	2195	16~38;
	2	〃 26–27	14.3	30	20	1.5	150	403	2165	45	15	2628	T. L. of males,
	3	Dec. 1–2	14.9	22.5	15	2.0	113	275	908	300	82	1565	14.5 ± 0.3 (cm)
II	4	Nov. 21–22	15.4	22.5	12.5	1.5	70	889	400	40	49	1378	Number of males,
	5	〃 22–23	15.4	25	12.5	1.5	78	666	870	129	12	1677	8~28;
	6	〃 23–24	15.4	22.5	12.5	2.5	117	234	539	143	7	923	T. L. of males,
	7	〃 27–28	15.1	22.5	20	1.8	135	1160	4662	1122	35	6979	14.0 ± 0.5 (cm)
	8	Dec. 4–5	13.8	30	12.5	2.0	250	528	3547	672	176	4923	

* 1)~3) showing the maximum. 4), calculated from 1), 2), and 3).
5) measured from the surface of the spawning bed.

浮泥が除かれた。群が ♂ だけの場合に比べ，群に ♀ が加わる時には活動は一段と激しくなる。

Table 3 は Fig. 5 の産卵床における産卵量と産卵床表面にできた凹みの大きさを示している。ここにみられるように，産卵があつた場合には産卵床の表面に凹みがつくられ，産卵床の砂礫内深部にまで卵が産みつけられるが，産卵が行なわれない時には凹みは全くみられない。

このように砂礫層の深部にまで卵が産みつけられることは，産卵時の砂礫の移動のはげしさを思わせる。そこで Fig. 6 に示した産卵床表面の点線内に 30 ヶの標識（径 16mm，厚さ 3mm のガラス板）を予め散布し，その埋没状況を調べてみた。 Fig. 7 は 24 時間内に埋没したものと産卵量との関係を示したものである。埋没した標識の数と産卵量との間には正の相関関係があつて，標識に附着した卵数で産卵量を表わせば（Fig. 7 の○印）$r=0.80$，点線内から採集した 300~400cc の砂礫に附着した卵数で産卵量を表わせば（Fig 7 の×印）$r=0.82$ で，いずれも有意であり，産卵量の多いほど産卵床表面の砂礫の移動が著るしいことがわかる。

産卵床の ♂ の群に ♀ が加わると，1尾の ♀ に1乃至数尾の ♂ が近づき，相互に接触して ♀♂ ともに口を大きく開き，鰭を激しく動かしながら砂礫に強く体をこすりつける。 この数尾の上に ♂ の群が重なり合いながら密集することもよくみかけられる。この行動はきわめて短時間で了るが， 同一の ♀ を中心にして繰返して行なわれる。このような行動が，産卵床表面に凹みをつくり，また砂礫を移動せしめる原因となるのであろう。

III. 考　　察

以上 ♀♂ 比の変化が産卵活動に密接な関係をもつていることを示したが，つぎにその機構について二，三の考察を試みてみよう。

（1） 産卵期に ♂ の漁獲尾数が非常に多くなることがあるのは，♂ が産卵床に密集し，♀ は時々この群に接近するにすぎないという産卵習性によるものと考えられる。

（2） 産卵行動の観察では，放卵を直接に認めることはできなかつたが，♀♂ が砂礫に体を激しく接触させた部分に卵が多いこと，卵が産卵床の深部にも分布することから，放卵は砂礫の間に体を入れて行なうと考えられる。産卵前の ♂ の集合は，産卵床表面に働きかけて，浮泥を除き産卵を可能にする予備行動としても重要な意味があると考えられる。

（3） 産卵場における ♂/♂+♀ は，産卵群の大きさおよび O.W./B.W. が大きくなるにつれて大きくなり，Fig. 1 ではいずれも 10 月下旬から 11 月上旬に最大に達し，以後はいずれも減少している。 これは ♀ の熟度が大きくなり， 産卵群も大きくなるにつれて，つまり産卵が盛期になるほど上に述べた産卵床

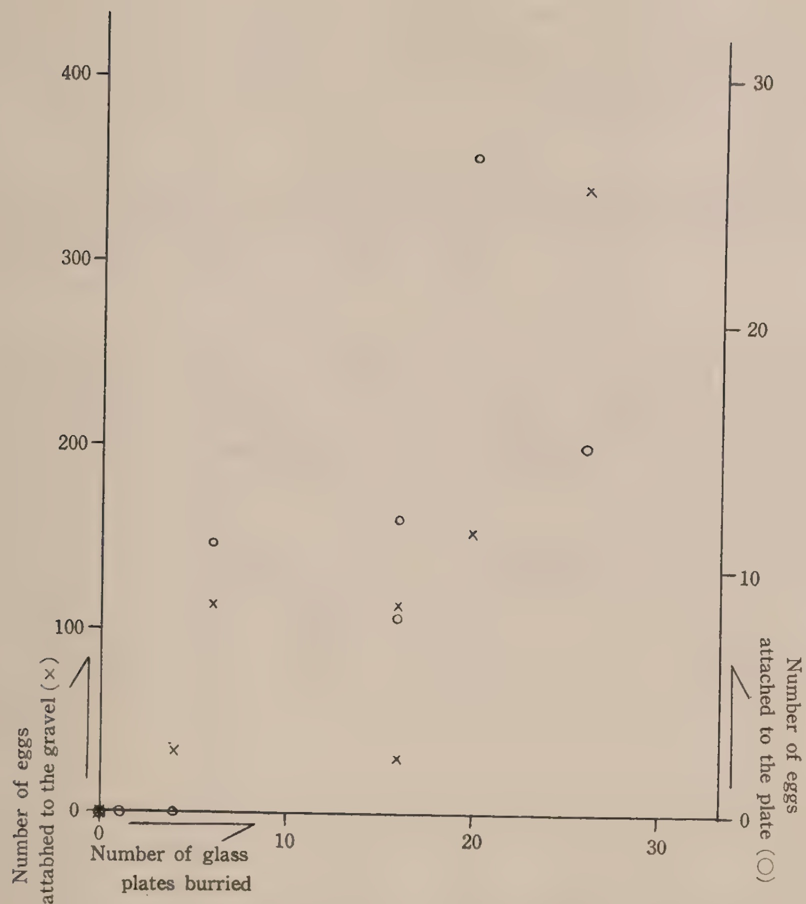


Fig. 7. The relation between the quantity of eggs spawned and the number of glass plates which were burried by the spawning action. The glass plates were previously scattered over the spawning bed.

への ♂ の集中が著るしくなるためであろう。産卵場内でみられる発眼卵の産着卵総数に対する割合の増減から産卵盛期が推定できるが，♂/♂＋♀ が最大に達する時期はよく，それと一致する。

IV. 摘　　要

（1） アユの産卵群に見られる ♀♂ 比の季節的変化の原因を検討した。

（2） 産卵場のアユの ♀♂ 比の季節的変化を礫の大きさおよび ♀ の成熟度の季節的変化と対比して調査し，また産卵行動の池中観察を行なつた。

（3） 産卵の初期から盛期にかけては ♂ が次第に多くなるが，末期には減少する。♂ 尾数の総尾数に対する比（♂/♂＋♀）は群の大きさおよび ♀ の体重に対する卵巣重量比（O.W./B.W.）と正の相関関係がある。また，産卵も ♂/♂＋♀ の最も大きい時に一番盛んである。

（4） 成熟した ♂ は産卵床に密集し，このために砂礫の上に沈積した浮泥等は除かれる。この群に少数の ♀ が時どき加わつて産卵が行なわれる。この結果，産卵場には ♂ のみ，または ♂ を主とした群ができ

る。産卵行動によつて表面の砂礫は移動して凹みが生じ，卵は砂礫の間に産みつけられる。

（5） アユの産卵群の ♀♂ 比の季節的変化は，上に述べた産卵習性によるものと思われる。すなわち ♂ の産卵場へ集中する傾向は，♀が成熟するに応じて著しくなり，これにしたがつて産卵群も大きくなり産卵も盛んになる。しかし，産卵の盛期を過ぎるとこの傾向は次第に弱まり産卵群も小さくなる。

終りに研究に際して終始御指導頂き本稿の御校閲を賜わつた大島泰雄教授，有益な助言を与えられた江草周三助教授，多くの便宜を与えられた淡水区水産研究所長黒沼勝造氏，白石芳一技官，他の所員の方々，資源科学研究所員中村守純氏，望月八重子氏，協力をえた相模川第二漁業協同組合員諸氏に厚く御礼申し上げる。

文　献

1） 阿部　圭： 鮎，(1933).
2） 鈴木喜三郎： 水産増殖，**5** (3)，(1958).
3） 京都府水産課： 鮎放流基準調査報告，(1956).
4） 狩谷貞二・佐々木博： 日本水産学会東北支部会報，**5** (1・2)，(1954).
5） 白石芳一： 淡水研報，**1** (1)，(1952).
6） 島立孫亥： 本誌，**16** (5)，(1950).
7） 小林彦四郎： 水研誌，**18** (7)，(1923).
8） 京都府水産課： 鮎放流基準調査報告.(1957).

電気垣網の魚群阻止効果

草 下 孝 也

(1959 年 5 月 22 日受理)

STOPPING EFFECTS OF ELECTRIC FISH SCREEN

Takaya KUSAKA*

The author has done to see stopping effects of electric fish screen in place of leading net.

Fish materials used were 10 *Carassius auratus* Goldfish of total length 5.0 cm., and 10 *Oryzias latipes* Japanese Killifish of T.L. 2.5 cm. as both live in fresh water, and 12 *Sphaeroides niphobles* Japanese common puffer T.L. 5—7.0 cm. in sea-water.

Two electrodes are set in the upper and lower sides at the center of tank, and were closed alternate electric current of sine wave of 50 cycles regulating its voltage and amperage by transformers. (Fig. 1).

Frequencies of fish individuals pass through the center of tank were compared on cases closed and off the electric current.

The result is in Tables 1—4. which are taken efficiencies of passage and those significancy of stopping effects were judged. (Table 5).

In general, stopping effects of electric current in fresh water is about 50% on better condition, as if sufficiently available. The otherhand, the case of sea-water is about 20% and also, less availability, because it is required several hundreds times of amperage than the case of fresh water.

ま え が き

著者は魚群の移動行動と漁具の作用効果についての研究を続けているが，今回は電流が魚群を阻止する効果について実験を行なつた。魚類に対する電流の刺戟効果については既報[1] したが，これの結果より実用電流である 50 サイクル交流が，魚群阻止に比較的効果があり，また，実用化しやすいことから，この実験では実用電流をそのまま用いることにした。すなわち，水槽の中央を通じた場合に，水槽内の魚群の移動行動がどのように変化するかを，淡水ではキンギョおよびメダカについて，海水ではクサフグについて，昭和 31 年 5 月 25 日～6 月 4 日の間に実験観察した。

材料および方法

淡水での実験には白ペンキ塗木製水槽，長さ 80 cm 幅 26 cm，水深 9 cm を用い，電極は鉄線径約 1 mm 長さ 25 cm を水槽の中央の水底とその上方 8 cm とに両極を設置した (Fig. 1)。

実験魚にはキンギョ *Carassius auratus* 10 尾，平均全長 5.0 cm，およびメダカ *Aplocheilus latipes* 10 尾，平均全長 2.5 cm を用いた。

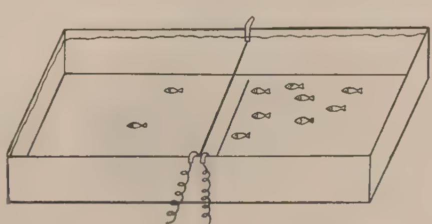


Fig. 1. The set for electric fish screen

電流は実用電流の交流 50 cycle を用い，変圧器と

* 東大農学部 (Lect.: Dept. Fish., Fac. Agr., Univ. Tokyo. Bunkyo-ku, Tokyo.

Table 1. Stopping effects of electric current to the Goldfish
Frequency of transfer against the voltage (10 individuals in 5 minutes).
The numerator is the case to closed electric current.
The denominator is the case of the blank test.
The lower grade is the efficiency of transfer (%).

Observed condition				Repeating										Average efficiency of transfer and the standard deviation
Date and time	Weather	Water temp.	Voltage	No. 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
No. 1～5. 6. 7. 13.00	cloudy	23.0°C	2 V	33/28	28/32	27/23	35/32	35/23	29/41	34/28	31/36	28/52	30/40	
6～10. 6.16. 11.00	〃	22.5		118	88	117	109	152	71	121	86	54	75	99.1±29.3
1～5. 6. 7. 14.00	〃	23.0	4	39/28	26/26	31/18	20/20	24/28	27/51	30/61	47/93	27/47	25/33	
6～10. 6.16. 10.00	〃	23.0		139	100	172	100	86	53	49	109	68	76	95.2±38.2
1～5. 6.10. 16.00	〃	23.5	6	33/40	36/33	25/30	18/18	15/17	10/41	8/18	5/20	3/21	5/19	
6～10. 6.14. 16.00	〃	22.5		83	109	83	100	88	24	44	25	14	26	59.6±36.4
1～5. 6.11. 10.00	〃	23.0	8	20/36	23/28	23/29	22/19	11/19	3/45	5/30	7/29	3/18	4/23	
1～10. 6.14. 15.00	clear	22.5		56	82	79	116	58	7	17	24	17	17	47.4±36.5
1～5. 6.13. 10.00	〃	22.5	10	42/79	35/36	25/30	27/32	31/37	3/38	2/47	5/28	6/29	2/26	
6～10. 6.14. 14.00	〃	22.0		53	97	83	84	84	8	4	18	21	8	46.0±38.0
1～5. 6.13. 11.00	〃	22.5	12	37/43	23/24	17/28	24/31	29/21	0/80	2/75	4/63	4/58	1/56	
6～10. 6.14. 12.00	〃	22.0		86	96	61	77	138	0	3	6	7	2	47.6±50.3
1～5. 6.13. 15.00	〃	22.5	15	8/35	3/43	0/44	0/29	1/25	2/74	2/58	0/60	1/51	0/34	
6～10. 6.14. 10.00	〃	22.0		15	7	0	0	4	3	3	0	2	0	3.4±4.7
6.14. 11.00	〃	22.0	20	0/51	0/31	—	—	—	—	—	—	—	—	
	〃			0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	0

Table 2. Stopping effects of electric current to the Japanese Killifish
Frequency of transfer against the voltage (10 individuals in 5 minutes).
The numerator is the case to closed electric current.
The denominator is the case of the blank test.
The lower grade is the efficiency of transfer (%).

Observed condition				Repeating										Average efficiency of transfer and the standard deviation
Date and time	Weather	Water temp.	Voltage	No. 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
5.25. 11.00	cloudy	20.0°C	10 V	38/47	32/52	43/32	37/51	30/37	35/64	36/38	39/40	12/36	34/35	
				81	62	134	73	81	55	95	98	58	97	83.4±23.9
5.25. 15.00	〃	20.5	12	34/52	23/52	25/41	19/31	24/19	28/38	28/21	27/39	13/41	25/30	
				65	44	61	61	126	74	133	69	32	83	74.8±32.3
No. 1～ 5. 5.26. 11.00	clear	19.0	15	52/59	27/51	23/49	32/46	40/73	26/38	15/21	3/23	13/17	7/15	
No. 6～10. 〃 . 15.00				42	53	47	70	55	68	48	13	76	47	51.9±17.8
5.27. 12.00	〃	19.0	20	15/54	12/38	11/52	8/10	14/16	17/35	11/29	16/29	3/18	10/18	
				33	32	44	80	86	49	38	55	17	56	49.0±21.4
5.27. 16.00	〃	19.0	8	14/25	11/16	10/7	12/11	14/13	16/10	2/6	0/8	6/11	4/6	
				56	69	143	109	108	160	33	0	55	67	80.0±49.5
5.30. 15.00	thin	20.0	6	14/25	7/14	3/8	7/9	6/8	14/20	9/18	10/6	15/8	6/6	
	cloud			56	50	38	78	75	70	50	167	188	100	87.2±51.0
No. 1～ 5. 5.31. 12.00	cloudy	20.5	4	65/72	79/61	49/47	48/47	60/74	55/68	28/64	53/72	16/42	31/37	
6～10. 〃 . 14.00				90	132	104	91	81	81	44	74	145	84	92.6±28.8
5.31. 15.00	〃	20.5	2	43/66	33/15	28/37	29/20	28/25	19/25	20/15	40/22	22/24	15/27	
				65	220	76	145	112	76	133	182	92	56	115.7±54.0

Table 3. Average efficiency of transfer and the standard deviation for the Goldfish and the Japanese Killifish (%)

Kind of fish	Voltage (Interval of the electrodes is 8 cm.)							
	2 V	4	6	8	10	12	15	20
Gold fish	99±29	95±38	60±36	47±37	46±38	48±50	3±5	0
Killifish	116±54	93±29	87±51	80±50	83±24	75±32	52±18	49±21

Table 4. Stopping effect of the electric current (100 V. A.C.) to the Japanese common puffer
Frequency of transfer to the amperage (12 individuals in 5 minutes)
The numerator is the case to closed electric current.
The denominator is the case of the blank test.
The lower grade is the efficiency of transfer (%)

Observed condition				Repeating					Average efficiency of transfer and the standard deviation
Date and Time	Weather	Water temp.	Amperage	No. 1	2	3	4	5	
6.8. 11.00	cloudy	24.0°C	1.0 A	129/166 78	159/124 128	127/159 80	108/119 91	117/118 99	
6.9. 9.00	clear	22.5	〃	196/225 87	168/199 84	132/142 93	109/131 83	110/124 89	
6.9. 11.00	〃	23.0	〃	69/94 73	68/100 68	76/110 69	69/98 70	73/72 103	Number of repeating = 20
6.9. 12.00	cloudy	23.5	〃	68/69 99	75/71 106	68/81 84	61/97 63	60/104 58	85.2±16.7
6.9. 13.00	〃	24.0	0.6	117/126 93	39/106 84	81/113 72	69/104 66	119/115 103	$N=5$ 83.6±4.8
6.9. 15.00	〃	24.0	0.3	97/113 86	90/98 92	86/99 87	93/93 100	74/77 96	$N=5$ 92.2±5.9

Average efficiency of transfer (%) (Length of the electrode is 30 cm.)	Amperage		
	0.3 A	0.6	1.0
Japanese common puffer	92±6	84±5	85±17

スライダックで電圧を調節した。

各魚種について，実験魚 10 尾を水槽に游泳させておき，1分間ずつ対照と通電との場合の観察を繰返し，5回ずつ計 10 分間継続した実験を各電圧について行なつた。

海水中における電流の効果を見るためには，海水約 6 l を瀬戸引バット，長さ 46 cm，幅 32 cm，水深 5 cm に保つて，その中央二等分線の水底とその上方 4 cm の間隔のところとに両極（長さ 30 cm，径約 1 mm の鉄線）を置いた。

実験魚には，クサフグ *Sphaeroides niphobles* 12 尾，全長 5〜7.0 cm を用いた。

海水中で魚を感電させるには淡水の場合に較べ数 100 倍の電力を要するので[2]，電源には実用交流 50 cycle, 100 V を用い，電流の調節は電球を直列に抵抗として入れて行なつた。

各電流について，淡水の場合と同様にして，繰返し観察を 20 または5回行なつた。

結果および検討

これらの観察値を通過頻度数とし，通電した場合の頻度数を通電せぬ対象の場合で割つて，その 100 分率を通過率とした。これらから平均通過率を求め，各電圧及び電流，魚種についての平均値の有意差の検討を行なつた (Table 1∼5. & Fig. 2.)。

Table 5. Significancy of the efficiency of transfer

Goldfish $N=10$

Voltage	2V $\bar{x}=99$	4 95	6 60	8 47	10 46	12 48	15 3	20 0
2V $s^2=861$	$\bar{x}-\bar{y}$ / ω	4 / 34	39 / 33	52 / 33	53 / 34	51 / 41	96 / 21	99 / 12
4 1462	—	\	35 / 37	48 / 37	49 / 38	47 / 45	92 / 27	95 / 27
6 1321	5%	5	\	13 / 36	14 / 37	12 / 44	57 / 26	60 / 26
8 1329	1	1	—	\	1 / 37	1 / 44	44 / 26	47 / 26
10 1440	1	1	—	—	\	2 / 45	43 / 27	46 / 27
12 2527	5	5	—	—	—	\	45 / 36	48 / 36
15 21	1	1	1	1	1	5	\	3 / 47
20 0	1	1	1	1	1	1	—	\

Killifish $N=10$

Voltage	2V $\bar{x}=116$	4 93	6 37	8 80	10 83	12 75	15 52	20 49
2V $s^2=2921$	$\bar{x}-\bar{y}$ / ω	23 / 43	29 / 52	36 / 52	33 / 42	41 / 44	64 / 40	67 / 41
4 832	—	\	6 / 41	13 / 41	10 / 27	18 / 31	41 / 24	44 / 25
6 2598	—	—	\	7 / 50	4 / 40	12 / 43	35 / 38	38 / 39
8 2454	—	—	—	\	3 / 39	5 / 42	28 / 37	31 / 38
10 569	—	—	—	—	\	8 / 38	31 / 21	34 / 23
12 1040	5%	—	—	—	—	\	23 / 26	26 / 27
15 317	1	1	5	—	1	5	\	3 / 21
20 458	1	1	5	—	1	5	—	\

Puffer (100 V. A.C.)

Amperag	0.3A $\bar{x}=92$	0.6 84	1.0 85
0.3A $N=5$ $\sum(x-\bar{x})^2=141$	$\bar{x}-\bar{y}$ / ω	8 / 5.4	7 / 15.4
0.6 $N=5$ 91	5%	\	1 / 15.4
1.0 $N=20$ 5331	—	—	

N····Repeated number

$\bar{x}, \bar{y}$····Average efficiency of transfer

s^2····Variance

ω····Pooled variance

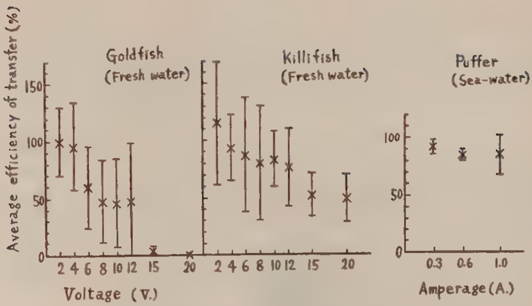


Fig. 2. Stopping effects of the electric current in fresh water and sea-water.

観察値はいずれの場合も変動が大きいが，電流に対する魚の反応が定まつたものでなく，また，水中の電流分布が一様でないことなどの原因が考えられる。

メダカの場合では，極間隔 8 cm に対し，2 V の電圧をかけた場合の電流に対して，感応している様子であるが，阻止効果は未だ殆んどみられず，4 V から幾分効果があらわれ，8～12 V で通過率が 80% になり，15～20 V で約 50% に減じる。20 V 以上では阻止効果によくなるが，電流に麻痺する個体が多くなる。キンギョにおいても，メダカと同様な傾向であるが，阻止効果がうわまわり，8～12 V で通過率が 50% となり，15 V 以上ではほとんど 100 %通過が阻止されている。しかし，やはり 15 V 以上になると麻痺する個体が多くなる。電圧の上昇にしたがつて，阻止効果が増大するが，8～12 V の間では両魚種とも通過率が比較的安定しているので，この点は利用上注目すべきことと思われる。すなわち，電流では細かい網目のごとく，完全に通過を阻止することはほとんど困難であるが，魚群を誘導するための垣網のごとく，ある程度の阻止効果を目的とするのであれば，上記のごとき効果の安定した電圧範囲での利用が考えられる。

但し，これは淡水中での場合であつて，一方，海水の場合においては，クサフグに対する効果として，電極の長さ 30 cm の場合に 100 V 1 A の電流を通じて，漸やく通過率を 85% にさげる程度で，電流を更に強くすれば阻止効果をあげることができると考えられるが，その電力は莫大であるから，海中では衝撃的な断続電流が利用利用されるべきであつて，海水中での電流の利用は却々困難である。

前述の淡水の場合の実験で水中に通じられた電流は，水温 27°C，電極径 1 mm，長さ 25 cm 鉄線の両極間の間隔 8 cm の場合において

2 V	3	4	5	6	7	8	9	10
1.4 mA	4.0	5.0	7.0	8.0	9.0	11.0	12.0	14.0

のごとくである。

したがつて，海水では淡水の場合の数 100 倍の電力を要して，かつ，僅かな阻止効果があるのみである。

電流は漁網とは本質的に異なるものであるから，網に代るものとして考えずに，直接，魚に対する電流効果を考究して，利用の道を見出すべきであると考える。

文　　献

1) 檜山・卓下: 魚に対する電流の方向，強さ，周波数および波形の影響について，水産動物の研究，I，岡田彌一郎編 (1950).
2) 黒木敏郎: 水温と刺戟感応との関係について適水温の検討，鹿児島大学水産学部紀要，3(2) (1954).
3) 黒木敏郎: 電戟漁法，技報堂 (1955).

Fin-Clipping 法による養鰻池のウナギ総数の推定について

能 勢 幸 雄

(1959 年 5 月 22 日受理)

AN EXPERIMENT ON THE FIN-CLIPPING METHOD FOR ESTIMATING THE POPULATION SIZE OF EEL IN A CULTURE POND.

Yukio NOSE*

The number of eel, *Anguilla japonica* in a culture pond (about 1 acre) was estimated by PETERSEN mark-and-recapture method, and the estimates which were obtained from the first set of data and that of the first and second sets of data, treated as a whole, were compared with the actual number of eel captured after the draining of the pond.

The results indicated that the estimates were fairly greater than the actual number of fish and the source of error was mainly attributable to misjudging some of the marked fish for those that were unmarked, which is caused by the rapid regeneration of the clipped fin in some of the marked fish.

The correction equation for p, marked ratio in samples, was derived as follows,

$$p=\frac{p'-\varepsilon_1}{1-\varepsilon_1-\varepsilon_2}$$

and

$$V(\hat{p})=\frac{(p'-\varepsilon_2)(1-p'-\varepsilon_1)}{n(1-\varepsilon_1-\varepsilon_2)^2}$$

where p' is the apparant marked ratio in samples, p is the marked ratio in samples when there is no misjudgement, ε_1 is the rate of misjudging the marked as the unmarked, ε_2 is the rate of misjudging the unmarked as the marked, which is caused by deformity of the fin, and n is the size of samples.

In the present experiment, ε_2 was neglected and ε_1 was about 0.2. The recalculation, using the above equation, showed the new estimates were both in conformity to the actual mumber of fish.

I. まえがき

標識魚の再捕数を用いて漁獲資源の大きさを推定する方法については多くの報告があり，さまざまな場合について推定式とその精度の計算式が統計数学的に与えられている[1)2)3)4)]。また，単に再捕結果を統計学的に処理するだけではなくて，必要とする精度で資源の大きさをおさえる計画についての報告もある[5)]。

ところで，よく知られているように，これらの推定式は，つぎのいくつかの条件がすべて充たされる場合にのみ成立する[2)]。すなわち，標識魚がその標識を失わず，標識魚と非標識魚でとられやすさも自然死亡も変らず（ある場合には自然死亡を無視する），魚の出入りのない閉じた系からランダムに標本（漁獲物）がとられ，さらに，標本中の標識魚の発見が完全に行なわれることが必要である。

これらの条件がすべて充たされる場合にのみ，かたよりのない推定値のえられることが数学的に証明できるし，randomize しやすい豆を使つたモデル実験もこのことを裏づけている[5)6)]。

しかし，実際の漁業の場では，これらの条件が完全に充たされることはまずないことであつて，適当な補

* 東京大学農学部水産学科（Fish. Inst., Fac. Agri., Univ. Tokyo).

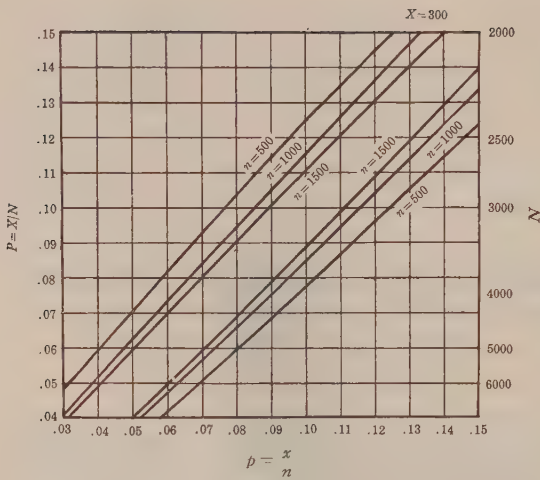


Fig. 1. Confidence limits on sample marked ratios and on estimated numbers, at a confidence level of 95%, experiments for involving 300 marked fiish. N: the estimate of population size, X: the number of marked fish released, n: the size of samples, x: the number of recaptures, P: the estimated marked ratio, and p: the marked ratio in samples.

Table 1. Data of marking experiment for estimating the size of eel, *Anguilla japonica* population in culture pond. n: the size of sample, x': number of recaptures and p': the marked ratio in samples.

No.	Date	Fishing method	n	x'	p'
1	1, July	eel-net	1586[1]	98	0.0618
2	〃	〃	595[1]	37	0.0621
3	8, 〃	bamboo trap	36[2]	3	0.0833
4	9, 〃	〃	40[2]	5	0.1250
5	10, 〃	〃	13[2]	2	0.1538
6	17, 〃	dip net	63	5	0.0794
7	26, 〃	fishing with shelters	24	2	0.0833
8	28, 〃	〃	5	0	—
9	31, 〃	dip net	8	0	—
10	1, Aug.	〃	10	2	0.2000
11	2, 〃	fishing with shelters	476	26	0.0546
12	4, 〃	dip net	10	2	0.2000
13	6, 〃	〃	18	2	0.1111
14	12, 〃	〃	34	2	0.0588
15	18, 〃	〃	13	2	0.1538
16	27, 〃	〃	9	2	0.2222
17	3∼4, Sept.	bamboo trap	99[2]	13	0.1313
18	22, Dec.	draining of pond	2673[3]	48	(0.0180)

1) Most of them were replaced in pond after inspection.
2) All of them were replaced in pond after inspection.
3) The number of fish in the pond after draining and the total number removed earier together make the total number of fish in the pond.

正が行なわれないかぎり，結果として推定値にかたよりの入ることは当然のことといわなければならない。

本報では，チップ実験と実際の漁業の中間的な性格をもつた養鰻池のウナギを対象として，その数を単純な PETERSEN 法で推定し，これを実際にその池かりとあげられたウナギの数と比較した結果および，その際生じた 2, 3 の問題点，とくに標本中の標識魚の発見率について吟味した結果を報告する。

II. 実験の経過

実験の対象として愛知県伊川津にある東大水産実験所の養鰻池*のウナギを用いた。このウナギは 1958 年 4 月 28 日に放養されたもので，6 月 13 日の標識放流時の体重は平均約 64 g であつた。標識としては魚体右側の胸鰭を切断する方法を用いた。胸鰭の切断は一人が網地で魚をおさえ，他の一人が鋏で鰭を 2/3 くらい切落したが，魚の動きがはげしかつたものもあつて切口は必らずしも一様ではなかつた。標識放流尾数は 301 尾である。

この程度の標識尾数からの再捕でどのくらいのことがいえるかを知るために，SCHAEFER[3] にならつて Fig. 1 を用意した。4 月 28 日の放養尾数は 3∼4000 尾といわれていたので（母標識率 P はほぼ 0.07∼0.10），標本の大きさ 1500 で，標本標識率 p が P に近似していたとしても，推定値の信頼限界の上限と下限で 1500 尾前後の差のある，ごくおおざつぱな推定しかできないことになる。

* 同実験所 4 号地。面積およそ 1 acre，水深平均 0.8 m. ボラ，コイなどを混養する。

これは，標識魚の絶対数の少ないことによるもので，標本採取前に予知していたことである。

サンプリングは7月1日からはじめた。魚の採捕には，すき網 (Eel net)，しば漬け (Fishing with shelters)，竹筒 (Bamboo trap) および手網 (Dip net) の4種類を用いた。そのデータは Table 1 に示したとおりである。この内，竹筒でとつたものは標識魚，非標識魚の数を計数後全部，また，すき網のものもそのほとんど全部を池にもどした。サンプリングを9月上旬で打切つたのは，切断した胸鰭の再生が目立つて来たため，それにともなう標識魚と非標識魚の識別の誤りを恐れたためである。

12月22日には池がえを行なつて，残存するウナギの数を正確に数えた。その総数およびふくまれていた標識魚の数は Table 1, No. 18 にある。

なお，6月13日から9月4日までの間に確認した自然死亡数は，標識魚になく非標識魚で11尾，9月4日以後池がえまでの間に，標識魚で2尾，非標識魚で12尾となつている。

III. 総数の推定

初期総数の推定にはつぎの式を用いた。

$$\hat{N}=\frac{X\cdot\Sigma n}{\Sigma x} \qquad (1)$$

ただし，X は標識放流尾数，n は標本の大きさ，x は標識魚の再捕尾数である。

Table 1 にあるように，No. 1 のすき網の標本の大きさが大きいので，No. 1 のデータだけを用いた時と，No. 1 から No. 17 までの全部のデータを使つた時の2つの場合について計算した。X はともに 301 である。計算結果は

No. 1 のみ： $\hat{N}=\frac{301\times 1586}{98}=4871$

No. 1～No. 17 全部を用いた時： $\hat{N}=\frac{301\times 3039}{203}=4506$

となり，それぞれ近似的に 95% の信頼限界をもとめると Table 2 のようになる。信頼限界は比較のためポアソン分布，二項分布，超幾何分布（いずれも正規分布に近似して）を仮定した場合のおのおのについて計算しておいた。この程度の再捕数では分布のちがいによる精度の差はほとんど問題にならないことがわかる。

いつぽう，Table 1 の No. 18 の数と，実験期間中に池からとり去つたウナギの総数とを加えて初期の実数を求めると 3833 尾となる。これに，従来の経験から，100 尾前後のとり残しを考えて，Table 2 の実数とした。

Table 2. Comparison of the estimates with the actual number of fish. N, the estimate of population size, N_L and N_U, the lower and upper limit of 95% confidence interval.

	$\hat{N}$	N_L	N_U	Assumed distribution
I[1]	4871	4053	6105	Poisson
		4075	6055	Binomial
		4192	5811	Hypergeometric
II[2]	4506	3951	5242	Poisson
		3968	5213	Binomial
		4181	4866	Hypergeometric
Actual number of fish in pond.	3833—3933			

1) Calculation was based on the No. 1 samples only.
2) Calculation was based on all samples from No. 1 to No. 17.

Table 2 で明らかなように，推定値はともに実数をはさまず，かなりの過大推定になつている。

IV. 論議と考察

Ⅲで記したように，この実験では推定値にかたよりが入つて実数をはさむことに失敗した。そこで，前提条件の一つ一つを検討してみることにする。

i） 実数の正確さ

これは前提条件ではないが，推定値が正しいかどうかを比較するただ一つの対象である。さきにも述べたように，ここでいう実数とは実験期間中に池からとり去つた魚の数と池がえの時の残存数の和である。池がえの際には 30 人近い人手を使つて底の泥までかき起して徹底的に計数したのであるが，それでもなお多少低目に出ているかも知れない。しかし，放養尾数のみつもりとも近似しているし，とり残しを考慮して 100 尾の幅をもたせてあるので，3800～3900 という実数はまず確かなものであろう。

また，この期間中に弱つた魚が鳥などにもち去られたり，あるいは池の堤をこえて逸出することもあつたかも知れないが，そう大した数にはならないだろう。

ii） 標識魚の死亡

さきにも述べたように，実験期間中に確認された死亡は標識魚で 2 尾であり，いずれもサンプリング終了後であつて，標識魚が非標識魚より死亡率が高いという事実はない。標識放流直後の死亡には特に注意していたから，標識魚のみが弱つて鳥などにもち去られたとは考えられない。

iii） 標識魚と非標識魚の生態差

池中での標識魚と非標識魚のまじりかたは不明であるが，毎日えさ場にウナギを集める養鰻池の性格からいつて比較的ランダムになつていたと思われる。また，体重増加の傾向からみても標識魚と非標識魚で行動に差があつたように思えない。すなわち，標識放流時に 64 g だつたものが，7 月 8，9，10 日のデータでは標識魚 110 g，非標識魚 96.8 g，また 9 月 3，4 日の計量では標識魚 126.5 g，非標識魚 115 g であつた（いずれも平均）。なお，漁法によつて，p' が異なるようであるが，この点は後日の検討にゆずりたい。

iv） 鰭の再生と標識魚の発見率

切断した鰭の再生は Tagging の場合の tag の脱落に相当し，標識魚と非標識魚の識別を誤らせる。この実験でも，8 月下旬ごろから鰭の再生が目立つてきたため，9 月 4 日を最後にサンプリングを打切つたのである。しかし，それ以前においても，鰭の切断の不充分なため，あるいは再生の速やかだつたもののために，本来標識魚として記録されるべきであるのに，非標識魚と見誤られたことがかなりあつたのではないかと思われる。ちなみに，9 月 4 日までに池からとり去られた標識魚の数は 57 尾であつたから，12 月 22 日の池がえの際の標識魚の期待数は 244 尾であつたが，実際には判断のむずかしいもの 9 尾をふくめても標識魚と認められたものは 48 尾にすぎなかつた。これは，9 月 4 日以降 12 月 22 日までの間に 200 尾近い数の魚の胸鰭が全部再生したというよりも，先に書いた鰭の切断の不充分なもの，あるいは再生の速やかだつたものを非標識魚として記録したことも大きく作用しているとみるべきであろう。Table 1 でもわかるように p' の値を低くし，$\hat{N}$ を大きくかたよらせているのは主としてすき網のデータであつて，この漁法の際は数尾ずつ小さなざるにとつて水面下で標識魚・非標識魚の識別を行なつたことに誤りの原因があつたように思われる。事実，非標識魚として区別された標本の一部から再度の check によつて標識魚の発見をみたことがある。そこで，この誤認率に問題をしぼつてみよう。

いま，母集団の大きさを N，それにふくまれる標識魚の数を X，標識魚を非標識魚と見誤る率を ε_1，さらに非標識魚を標識魚と見誤る率を ε_2 とすると，調査の結果，標識魚としてあらわれるみかけ上の標識魚数 X' は，

$$X' = X - X\varepsilon_1 + (N - X)\varepsilon_2 \qquad (2)$$

となる[*]。したがつて，みかけ上の標識率 P' は，

$$P' = P(1 - \varepsilon_1 - \varepsilon_2) + \varepsilon_2 \qquad (3)$$

である。ただし，P は真の標識率である。

また，P，P' をその推定値 p，p' でおきかえると

$$p = \frac{p' - \varepsilon_2}{1 - \varepsilon_1 - \varepsilon_2} \qquad (4)$$

---

* 標識として fin-clipping を用いる時に，鰭の畸型ものを標識魚と見誤る率。

となり，さらにその分散 $V(\hat{p})$ は

$$V(\hat{p})=\frac{(p'-\varepsilon_2)(1-\varepsilon_1-p')}{n(1-\varepsilon_1-\varepsilon_2)^2} \tag{5}$$

であらわせる。

こうして，ε_1, ε_2 が存在する時には，標識率の推定値にはかたよりが入り，分散もめんどうな形になることがわかる。

この実験の場合，ε_2 については何の情報もないので，$\varepsilon_2=0$ として議論をすすめると，

$$p=\frac{p'}{1-\varepsilon_1} \tag{6}$$

および，

$$V(\hat{p})=\frac{p'(1-p'-\varepsilon_1)}{(1-\varepsilon_1)^2} \tag{7}$$

あるいは，

$$V(\hat{p})=V(p')-\frac{p'\varepsilon_1}{n(1-\varepsilon_1)^2} \tag{8}$$

がえられる。$V(p')$ は標本に実際にあらわれたみかけ上の標識率 p' の分散の期待値である。

この実験において，No. 1 の標本の一部からえられた ε_1 はほぼ 0.2 であつた*。誤認率 0.2 とは標識魚の発見率 $(1-\varepsilon_1)$ が 80% ということであつて**，かなり低いようにも思えるが，標識魚数 301，標本の大きさ 3039 および 1586 を用いて，真の資源の大きさ 3,900 から期待される再捕魚数 x を逆算すると，それぞれ 235，122 という数になる。これから ε_1 を求めると 0.14 と 0.24 になるので，$\varepsilon_1=0.2$ というのは必ずしも不適当でないことがわかる。

さて，上記の $\varepsilon_1=0.2$ を 6)，8) 式に入れて，p と $V(\hat{p})$ を計算すると，$n=3039$ の時には，

$$p=\frac{203}{3039(1-0.2)}=0.0835$$

したがつて

$$\hat{N}=\frac{301}{0.0835}=3605$$

また，

$$V(\hat{p})=\frac{1}{(1-0.2)^2}\times\frac{0.0668\times0.7332}{3039}=0.00002518$$

$$\therefore\quad D(\hat{p})=0.00502$$

$$2D(\hat{p})=0.0100$$

したがつて，$\hat{N}$ の 95% の信頼限界は近似的に

上限：$N_U=4095$　　下限：$N_L=3219$

となり，今度はほぼ目標精度にみあつた幅で真の値をはさむことができた。

同様に，$n=1586$ の場合は

$$p=0.0772$$

---

* 第1回目の check で 448 尾中 23 尾の標識魚をみつけた。非標識魚とした 425 尾中の 72 尾を再 check して，さらに1尾の標識魚を発見した。再 check をしなかつた 353 尾中にもなお5尾の標識魚がまじつているものとして，$\frac{6}{23+1+5}\fallingdotseq 0.2$ とおさえた。

** 発見率や報告率を実験的に check したものでは，スルメイカについて北水研・北水試 (1953) の 68% (報告率)[8]，ホッカイエビで久保・森下 (1954) の 95% (発見率) という報告がある[9]。しかし，ふつうはこれらの率がわからないので 100% として解析が進められている[10][11]。

$$\therefore \quad \hat{N} = \frac{301}{0.0772} = 3899$$

また，　　信頼度 95% の上限：$N_U = 4717$,　　下限：$N_L = 3322$

となり，推定値として良好である。

なお，上記の式中，標識魚を非標識魚と見誤る率（ε_1）を constant として計算したが，ε_1 は数量化しにくい検査員の能力や心理状態によつて影響をうけ，また，n（標本の大きさ）や，P（標識率）とも関係のある複雑な分布をもつたものと思われるが，ここではこれ以上の議論をさしひかえる。また，finclipping 法を用いる時には ε_2 も 0 であるかどうか検討の必要があろう。

V. お わ り に

この実験では，標識魚の再捕数から推定した資源の大きさは池がえの時の実測値をかなり上廻つた。推定値をこのように大きくかたよらせた原因の一つは，標本中の標識魚の発見率が低かつた（約 80%）ためと推察された。同じ目的で行なわれた KRUMHOLZ[12] (1944) の実験では，全魚種 (Twine 湖) をこみにした推定値はロテノンで殺した実測値と一致したが，魚種別の推定値は Largemouth blackbass を除いていずれも実測値よりはるかに大きくなつた。その原因としては実験に使用した漁具の選択性にあると考えられた。CARLANDER and LEWIS[13] (1948) が Marion County にある 0.3 acre の小さな池で行なつた実験の結果は Black bullhead を除いて推定値と実測値はおおむね一致した。Black bullhead ではいちじるしい過小推定であつたが，その原因はこの魚種の生態に漁法が適当でなかつたためである。FREDIN[14] (1950) も Iowa の二つの池で同じ結果をえている。JENKINS[15] (1955) が Ardmore Rodand Gun 湖で行なつた実験では White Crappie と Warmouth で過小推定になつた。原因は若年魚の添加によるとしている。なお，注意したいのはこれらの実験はすべて実数をおさえるのにロテノンによる毒殺の方法を用いているが，必ずしも全部の魚が回収されず，毒殺時の標識魚の回収率から全数（実数）を再び推定するという方法を用いたものの多いことである。

いわば，ロテノンの使用は漁具のかわりに sample size の大きい標本をとる一つの手段になつているといえる。それはともかくとして，標識放流調査の後でこのような census が行なわれることによつて，推定値のかたより方とその大きさ，およびかたよりをもたらした原因についての情報がえられている。これらの智識が以後の調査の進め方に大きな役割をはたすことは明らかである。

比較的管理しやすい小さな池や湖での実験でさえ，その結果が以上のようなものであるから，実際の漁業の場で標識放流によつて資源の大きさを推定するためには，理論式の基礎となつているさまざまな前提条件についての吟味が特に必要であることはいうまでもなかろう。

稿を終えるにあたり，この実験に関していろいろと便宜をはかつていただいた東京大学水産実験所々長檜山義夫教授および中村中六助教授，実験に協力と助言を惜しまれなかつた笠原正五郎助手はじめ水産実験所職員諸氏に感謝の意を表したい。また，江草周三助教授には同氏のとられた再捕率と成長のデータをいただいた。あわせて感謝したい。

VI. 要　　約

1) 養鰻池のウナギの数を fin-clipping した魚の再捕数から PETERSEN 法で推定したところ，実測値に比較してかなりの過大推定であつた。

2) かたよりの原因は主として標本を check する時の標識魚と非標識魚の誤認にあると思われた。

3) 誤認率がわかつている時に，推定値および信頼区間を補正する式をみちびいた。この式を用いて補正した結果は満足できるものであつた。

文　献

1) W.E. RICKER: Some applications of statistical methods to fisheries problems, *Biometrics*, **1**, 73～79, (1945).
2) ———: Methods of estimating vital statistics of fish populations, *Indiana Univ. Pub., Sci. Ser.*, **15**, 39～59 (1948).
3) M.B. SCHAEFER: Estimation of size of animal populations by marking experiments, *Fish. Bull., U.S. Fish and Wildlife Serv.*, **52**, 191～203, (1951).
4) 吉原友吉: 生物資源量の推定法, 日生態会誌, **4**, 177～182 (1955). ——, **5**, 37～41, (1955).
5) D.B. DELURY: On the planning of experiments for the estimation of fish populations, *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **8**, 281～307, (1951).
6) G.P. COOPER and K.F. LAGLER: Appraisal of methos of fish population study–Part III. Measurement of fish population size, *Trans. 21st North. Amer. Confer.*, 283～297, (1956).
7) 石川馨: 工場におけるサンプリング, 丸善, 東京 (1952), 201～202.
8) 北水研・北水試: 北海道区資源調査要報, (**4**), 15 (1953).
9) 久保伊津男・木下恵一: 野付産ホッカイエビの漁業, 資源, 繁殖保護, 資源研彙報, (**33**), 32～45 (1954).
10) 田中昌一: 標識放流によるクジラ資源量の推定, 本誌, **22**, 330～337 (1956).
11) D.E. OLSON: Statistics of a walleye sport fishing in a Minnesota lake, *Trans. Ame. Fish. Soc.*, **87**, 52～72.
12) L.A. KRUMHOLZ: A check on the fin-clipping method for estimating fish population, *Pap. Mich. Acad. Sci., Arts and Letlers*, **29**, 281～291, (1943).
13) K.D. CARLANDER and W.M. LEWIS: Some precautions in estimating fish populations, *Prog. Fish. Cult.*, **10**, 134～137 (1948).
14) R.A. FREDIN: Fish population estimate in small ponds using the marking and recovery technique, *Iowa State Coll., J. Sci.*, **24**, 363～384, (1951).
15) R.M. JENKINS: The effect of gizzard shad on the fish population of a small Oklahoma lake, *Trans. Ame. Fish. Soc.*, **85**, 58～74, (1955).

ÜBER DIE VIERLAPPIGEN GESCHLECHTSORGANE VON *NANSENIA ARDESIACA* JORDAN UND THOMPSON

Tamotsu IWAI*,**

(Eingegangen am 23, Juni 1959)

Die bisherigen Untersuchungen über die asymmetrischen Geschlechtsorgane bei den Clupeiformes nehmen in der Literatur einen bedeutenden Raum ein. KISHINOUYE (1907)[1], SOGURI (1942)[2], YAMAMOTO (1948)[3], KUBO und ONOE (1951)[4], und OCHIAI (1954)[5] behandeln die hiermit verbundenen Fragestellungen ausführlich. Im folgenden wird die in der Tiefsee lebende Art *Nansenia ardesiaca* in den Kreis der Betrachtung einbezogen.

Als Untersuchungsmaterial dienten 3 Tiere von 134.5–145.0 mm. Körperlänge. Sie wurden im Kumanonada am 6, Februar 1959 gefangen. Die Gonaden der Fische wurden in BOUIN fixiert und in Paraffin eingebettet. Geschnitten wurde auf 8–10μ, gefärbt mit Hämalaun-Eosin nach MAYER sowie mit Anilinblau-Kernechtrot-Orange-G.

Ergebnisse. Im allgemeinen finden sich die Gonaden der Knochenfische als paarige Organe im hinteren Teil der Leibeshöhle. Sie erstrecken sich in Längsrichtung des Körpers je nach Art etwa vom Beginn des Magens bis etwa zum After. Die Gonaden der 3 Exemplare von *Nansenia ardesiaca*, die wie gesagt im Februar gefangen wurden, waren noch unreif. Nach Öffnung der Leibeshöhle und Entnahme des Darmes erscheint die Gonade als ein längliches Gebilde von weisser Farbe. Wie Abb. 1 zeigt, gliedert sich das Organ in vier getrennte Stränge oder Lappen. Die vorderen Lappen liegen unter dem vordersten Ende der Schwimmblase und schmiegen sich mit einer Fläche an die dorsale Magenwandung an. Bei dem Tier von 134.5 mm. Körperlänge misst der rechte, vordere Lappen 24.0 mm., der linke dagegen 31.5 mm.; die vorderen Lappen zeigen also eine deutliche Asymmetrie. Die hinteren Lappen liegen zu beiden Seiten des Enddarmes und sind der Niere eng angeschmiegt. Die Geschlechtsöffnung liegt hinter der Afteröffnung. Die Länge des rechten hinteren Lappens beträgt 9.0 mm., die des linken 7.0 mm. Vorderer und hinterer Lappen jeder Körperseite sind durch einen mit schwarzem Pigment versehenen Geschlechtskanal verbunden (Abb. 1, *gk*).

Das ganze Organ ist von einer bindegewebigen Hülle umgeben. Die Eizellen in den Ovarien waren noch nicht reif. Der Durchmesser dieser Zellen beträgt ungefähr 53–67μ. Das Protoplasma ist ausserordentlich basophil und deshalb mit Hämatoxylin tief dunkelblau gefärbt. Der blasenartige Kern hat einen Durchmesser von 33–37μ. Schnitte der Hoden zeigten, dass die Spermatogenese ebenfalls in dieser Jahreszeit noch

* Institut für Fischerei der Universität Kyoto. (岩井 保，京都大学農学部水産学科).

** Insbesondere danke ich Herrn Prof. Dr. K. MATSUBARA für seinen Hinweis. Dank schulde ich auch Herrn Dr. W. HARDER von der Universität Hamburg für die Durchsicht des Manuskripts.

nicht abgeschlossen ist. Vordere und hintere Lappen zeigten keine Unterschiede im Reifegrad.

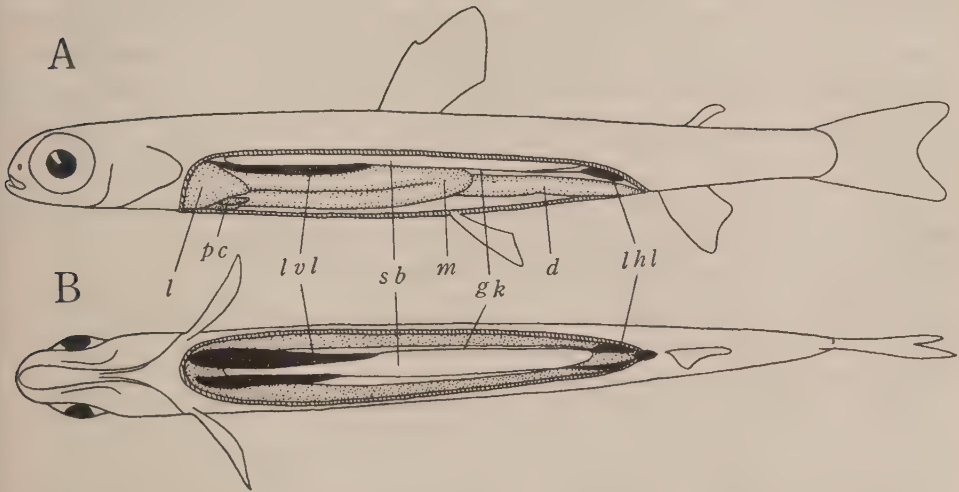


Abb. 1. Seitenansicht (A) und Ventralansicht (B) der Eingeweide von *Nansenia ardesiaca*. *d*. Darm; *gk*. Geschlechtskanal; *l*. Leber; *lhl*. linker Hinterlappen der Gonade; *lvl*. linker Vorderlappen der Gonade; *m*. Magen; *pc*. Appendices pyloricae; *sb*. Schwimmblase.

Besprechung. Sofern sich bei Clupeiformes die Gonaden asymmetrisch entwickeln, ist im allgemeinen die linke Gonade stärker entwickelt als die rechte. Dies stellten Kishinouye (1907)[1] und Kubo und Onoe (1951)[4] bei *Sardinops melanosticta*, Soguri (1942)[2] bei *Plecoglossus altivelis*, und Yamamoto (1948)[3] bei *Hypomesus olidus* fest. Lillelund (briefliche Mitteilung)[6] fand bei *Osmerus eperlanus*, dass die rechte Gonade stets stärker, massiger entwickelt ist als die linke.

Die vierlappigen Gonaden von *Nansenia ardesiaca* gleichen in Gestalt und Lage denen der verwandten Art *Argentina semifasciata*. Bei dieser Art beschreibt Ochiai (1954)[5], dass auch bei ausgereiften Gonaden die beiden Lappen einer Seite, also vorderer und hinterer, nicht zusammenwachsen. Bei *Argentina semifasciata* sind nun aber die hinteren Lappen asymmetrisch, und zwar der rechte grösser als der linke, im Gegensatz zur Asymmetrie der vorderen Lappen bei *Nansenia ardesiaca* (Abb. 1). Da *Nansenia ardesiaca* eine seltene Tiefseeart ist, wird man schwerlich genug Untersuchungsmaterial erhalten, um die Reifung der Gonaden zu verfolgen und zu untersuchen, ob etwa im ausgereiften Zustand die Asymmetrie von den vorderen auf die hinteren Lappen überwechselt, oder ob die Asymmetrie zeitlebens sich nur auf die vorderen Gonadenlappen erstreckt.

Die Gattung *Nansenia*, Familie Microstomidae, gehört zur Unterordnung Opisthoproctina. Chapman (1948)[7] stellt *Nansenia* auf Grund folgender Merkmale zur Unter-

ordnung Opisthoproctina: das Supramaxillare fehlt; Praemaxillare und Maxillare ohne Zähne; das Vorderende des Palatinum wächst mit dem Cranium zusammen; der dorsale Rand des Mesopterygoids verwächst mit dem Parasphenoid; das Metapterygoid ist sehr klein, usw. Es ist von besonderem Interesse, dass die Geschlechtsorgane der beiden Arten *Nansenia ardesiaca* und *Argentina semifasciata* sich in vier Lappen gliedern. Dieser Befund kann daher als bemerkenswertes Kennzeichen für die Unterordnung Opisthoproctina angesehen werden.

Literaturverzeichnis

1) KISHINOUYE, K.: *Jour. Imp. Fish. Bur.* **14** (3): 71–105. (1907).
2) SOGURI, M.: *Suisan Kenkyushi* **37** (5): 93–94. (1942).
3) YAMAMOTO, T.: *Seibutsu* **3** (3–4): 128–130. (1948).
4) KUBO, I. und J. ONOE: *Misc. Rep. Res. Inst. Nat. Resources* (19–21): 9–13. (1951).
5) OCHIAI, A.: *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **19** (9): 968-972. (1954).
6) LILLELUND, K.: (*briefliche Mitteilung*).
7) CHAPMAN, W. M.: *Proc. Calif. Acad. Sci. Ser.* 4, **26** (1): 1–22. (1948).

冷凍貯蔵中における魚肉の変色に関する研究—II.
魚肉中の Fe^{II} 型および Fe^{III} 型ミオグロビンの同時定量法*

佐野吉彦・橋本周久・松浦文雄

(1959 年 5 月 1 日受理)

STUDIES ON THE DISCOLORATION IN FISH MEAT DURING FREEZING STORAGE—II.
A SPECTROPHOTOMETRIC METHOD FOR THE SIMULTANEOUS DETERMINATION OF FERROUS AND FERRIC FORMS OF MYOGLOBIN IN TUNA MEAT

Yoshihiko SANO, Kanehisa HASHIMOTO and Fumio MATSUURA**

The method reported in the previous paper[1)] on pure myoglobin (Mb) solution was found to be also applicable to extracts prepared from tuna meat. The procedure is as follows: 10g. of the muscle finely ground in an ice-cold mortar are weighed into a glass-stoppered centrifugal tube and extracted for about 2 hours with 25 m*l*. of ice-cold water with occasional stirring in an atmosphere of CO (cf. Table 1). After centrifugation, 15 m*l*. of the supernatant are taken into another glass-stoppered centrifugal tube, to which some amount (usually 0.2 to 0.5 m*l*.) of 1 *N* NaOH solution are added for the purpose of removal of cloudiness, and the solution is left standing at least for one hour in a refrigerator. After centrifugation, 5 or 10 m*l*. of the supernatant are diluted with 10 m*l*. of ice-cold 0.2 *M* phosphate buffer of pH 7.0 and divided into three portions. These portions are subsequently treated as described in the previous paper[1)] and percentage distribution of metmyoglobin (MMb) in the extract is calculated by the equation, $\frac{a-d}{a-b}\times 100$, as shown before[1)].

In calculating the content of Mb in tuna meat, some considerations should be paid which are not necessary in the case of pure Mb solution, especially on the impurities of extract which disturb the spectrophotometry and on the water content of meat, and the following equation is recommended:

$$y=(a-z)(S_1/10+S_2)\frac{10fM}{E}\qquad (\text{mg.\%})$$

where f is dilution factor, S_1 water content (%) of the muscle, S_2 volume (m*l*.) of extractant used, M molecular weight of tuna Mb, E molar extinction coefficient of tuna carbonylmyoglobin (MbCO) at 568 mμ, and z optical density at 568 mμ by impurities. By the equation, $z=\frac{bp-a}{p-1}$, z may be obtainable, where p is a constant, the ratio of optical density at 568 mμ of MbCO to MMb (4.31 in the case of *Thunnus orientalis*).

The reliability of the method was checked by the recovery tests which were very satisfactory (Table 2), and some experiments were cited as examples of application of this mothod (Tables 3 to 4 and Fig. 1).

マグロ類等いわゆる赤身魚肉の冷凍貯蔵中における褐変現象を研究するに当つては前報[1)]の序にも述べたように，まずその主因である筋肉色素ミオグロビン（Mb と略記）の酸化すなわちメト Mb（MMb）生成の

* 本報告の要旨は昭和 33 年 4 月 2 日，日本水産学会年会において講演した。

** 東京大学農学部 (Lab. Fish. Chem., Fac. Agr., Univ. Tokyo).

過程を定量的に追及することから始めなければならないが，これまでのところかような目的に叶う Mb の誘導型態別分布測定法は確立されていない。著者らはこの方法の案出を目指し前報のごとく一応純粋 Mb 溶液については Fe^{II} 型（還元型およびオキシ型）ならびに Fe^{III} 型（メト型）各々の量を知る方法を見出すことができた。そこで今回はさらにマグロ肉を用い筋肉色素の抽出条件その他につき検討を加えた結果，本法の魚肉への適用が可能となるにいたつたので以下報告する。

I. 定量法に関する二，三の吟味

定量に当つてはまず筋肉より色素を抽出する必要があるが，この際最も肝要なことは得られた抽出液中の色素蛋白の Fe^{II} 型および Fe^{III} 型別分布割合が試料筋肉内のそれと同一でなくてはならぬことである。なお色素蛋白の抽出が完全であること，吸光度の測定を妨害する濁りを可及的除く必要のあることは勿論である。これらの点につき以下の吟味を行つた。

（1） **試料肉の磨砕方法**　(i) Mb 標品の調製に用いてきたドライアイス凍結後粉砕する方法，(ii) 氷冷した乳鉢中で迅速に磨砕する方法，および (iii) ホモゲナイザーを使用する方法の三者を比較した。(i) の方法は比較的長時間（約 30 分）を要し操作中の Fe^{II} 型からメト型への酸化を無視し得ず適当でない。一方 (iii) の方法も色素蛋白のメト型化が避け難いのみならず後述の pH 調節のみでは透明溶液を得られないという不便がありこれも不適当である。予め充分氷冷した乳鉢中で速かに磨砕する (ii) 法が結局抽出に最も良い成績を収めた。磨砕時間については試料肉の種類，鮮度等が関係し一概に規定できないが，メバチ筋肉 15g を用い検討した結果では 3〜5 分程度の磨砕で充分であつた。

（2） **色素蛋白抽出方法**　上記のごとくして得たメバチ磨砕肉 10g を遠心分離用共栓付沈澱管に採り氷冷水 20ml を加えガラス棒で攪拌した後，氷水冷却下 CO 気流を通じつつ色素蛋白の抽出を行い，後記の方法で全色素蛋白量および MMb 量を測定し抽出所要時間を調べた。結果は Table 1 に示すごとく 30 分で全色素蛋白の約 80% が抽出せられ 1 時間後には略々平衡に達する。なお同表中抽出時間を異にする各抽出液中の MMb の含量はほぼ一定で，このことは以上の抽出操作中における Fe^{II} 型より MMb への変化の無視しうることを示している。

Table 1. Extractability of Mb from ground tuna meat and proportion of MMb to total Mb in extract at different extraction time. See the text for the procedure.

Time of extraction (hr.)	0.5	1	2	3	5
Content of Mb (mg.%)*	256	316	315	320	323
Proportion of MMb to total Mb (%)	11.2	11.4	10.8	11.0	12.8

* On the wet basis.

（3） **抽出液からの濁りの除去**　抽出液の濁りは吸光度測定に先立つて除かねばならない。これには 1*N* NaOH 溶液で pH を 7 付近に調整し冷所に少くとも 1 時間放置後遠心分離することによつてほとんど完全に濁りを除きうる。

II. 操　作　法

以上の吟味の結果に基いてつぎのような操作法を定めた。ただし用量等はマグロ肉を標準としたものである。

試料肉を乳鉢中 0°C 付近で迅速に磨砕し，この肉 10g を共栓付遠心沈澱管に採り，氷冷水 25ml を加え，氷水冷却下（以下の操作も成るべく低温で行う）ガラス棒で充分攪拌した後 CO 気流中で約 2 時間抽出する。この間時々振盪する。終つて遠心分離後上清液 15ml を再び遠心沈澱管にとり 1*N* NaOH 溶液を加えて pH を 7 付近に調整した上，冷所に少くとも 1 時間放置する。ついで約 10 分間 CO ガス処理を行い遠心分離（3500 r.p.m., 15 分）すれば透明な溶液が得られる。試料肉の脂肪含量の高い時には上澄液に油分の浮上することがあるがこれは濾紙で濾過して除く。かくして得た抽出液の 5ml（あるいは 10ml）を共栓付フラスコにとり，氷冷した 0.2*M* phosphate buffer (pH 7.0) 10ml で稀釈し，その溶液約 5ml 宛を

共栓付試験管3本に分取する。ついで既報[1]のとおり各誘導型態に導き次式によつて全 Mb に対する MMb の割合（x %）を算出する。

$$x = \frac{a-d}{a-b} \times 100 \quad (\%)$$

ここに a, b は試料溶液中の Mb 全部をそれぞれカルボニル型 (MbCO), メト型に変えた時の，また d は試料溶液を直接 CO で処理した時の 568 mμ での吸光度を表す。

つぎに試料肉中の全色素蛋白量（y mg%）を算出するには次式を用いる。

$$y = (a-z)(S_1/10 + S_2)\frac{10fM}{E} \quad (\text{mg}\%)$$

ただし S_1 は試料肉の水分（%），S_2 は抽出に用いた水の量 (ml)，f は濁り除去のため加えた NaOH 溶液と稀釈に用いた phosphate buffer とによる稀釈倍率，M は Mb の分子量 (16,700 を用いた)，E は MbCO の 568 mμ での分子吸光係数（ホンマグロ 12,340，メバチ 12,570[2] の値を用いた）を示す。また z は吸光度測定に付した試料溶液中の Mb 以外の溶存物質または時として残存する多少の濁り等に基く吸光度でこれと a, b との間にはつぎの関係がある。

$$z = \frac{bp-a}{p-1}$$

ただし p は同一濃度の純粋 MbCO 溶液と MMb 溶液との 568 mμ での吸光比を表す。Mb 標品を用いて実験的にこの値を求めるとホンマグロでは 4.31，メバチでは 4.28 となる。

なお操作法に関する上記記述中 Mb のメト型化の進行を阻止するための CO ガス処理については経験上からの必要最少限を示したもので，実験の都合によつては随時この処理を施して差支えない。

III. Mb 標品添加回収試験

本定量法の信頼度をみるためメバチ筋肉（水分 76.2%）の磨砕肉 10 g に既知量の純粋 MMb[2]を含む水溶液 20 ml を加え添加 MMb の回収率を調べた。その結果は Table 2 に示すようにかなり良好で本定量法の精度はほぼ満足すべきものであるといえる。

Table 2. Recovery of MMb preparation added to tuna meat. Distilled water (20 ml.) containing known amount of MMb were added to ground meat (10 g.) for extraction.

MMb added (mg.)	Total Mb found (mg.)	Recovery of MMb added (%)
0	35.7	—
13.9	49.4	98.6
13.9	49.1	96.4
27.7	63.0	98.7
27.7	63.5	100.3

IV. 応 用 例

次に魚肉を種々の条件下に貯蔵した時の MMb の生成状況を本定量法によつて調べた二，三の実験例を参考に掲げる。

（1） 貯蔵温度と MMb 生成との関係を示す一実験： ホンマグロ肉片 (4×4×4 cm, pH 5.92) をポリエチレンの袋（厚さ 0.03 mm）に入れ，0°C および −5°C に貯蔵し MMb の生成状況を比較した結果を Fig. 1 に示す。MMb 生成量は数日間の貯蔵では 0°C の方が −5°C（凍結）よ

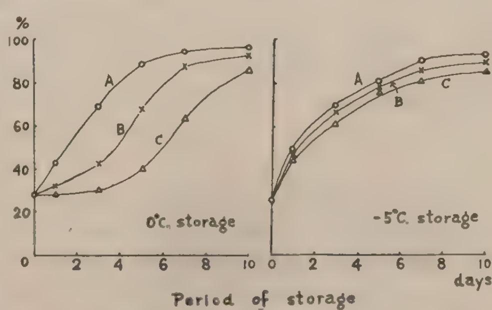


Fig. 1. Effect of storage temperature on MMb formation in tuna meat block (4×4×4 cm.). (A), in the superficial part; (B), in the central; and (C), in the intermediate. Ordinate; Proportion of MMb to total Mb.

りも寧ろ少かつた。

（2） **肉の表面からの距離と MMb 生成との関係を示す一実験**: メバチ肉片 (9×9×9cm, pH 6.65) をポリエチレンの袋に入れ 0°C に1週間貯蔵し表面からの距離を異にする各部位での MMb 量を測定した。結果は Table 3 に示すごとく表層部で MMb 生成が最も著しかつた。

Table 3. MMb formation at different depth from the surface of tuna meat block (9×9×9cm., pH 6.65), when stored for 7 days at about 0°C.

Distance from surface (cm.)	Content of Mb (mg.%)	Proportion of MMb to total Mb (%)
0～0.5	332	31.3
0.5～1.0	387	30.0
1.0～1.5	378	21.8
1.5～2.0	373	19.4
2.0～3.0	385	18.4
3.0～4.5	369	15.7

（3） **包装材料の通気性と MMb 生成との関係を示す一実験**: ホンマグロ肉片 (4×4×3cm, pH 6.01) を通気性袋（ポリエチレン，厚さ 0.03 mm）と非通気性袋（ラッカー塗りセロファン）とに入れ −18°C に 25 日間貯蔵し肉の表層部と中心部の MMb 生成状態を比較測定したところ Table 4 に示すごとく，袋の通気性による差はほとんどなく，表層部より内部の方が MMb 生成量が多いとの結果を得た。

Table 4. Effect of packaging material on MMb formation in tuna meat block (4×4×3 cm, pH 6.01), when stored for 25 days at −18°C.

Packaging material	Content of Mb (mg.%)			Proportion of MMb to total Mb (%)		
	Before storage	After storage*		Before storage	After storage*	
		a	b		a	b
Polyethylene	310	284	298	21.3	39.8	48.7
Cellophane lacquered	306	283	291	22.2	43.6	51.8

* a, Outer layer; b, inner layer.

以上の三実験の結果はいずれも肉眼的所見と何等矛盾するところがなかつた。

考　　察

（i） 本法の特色は CO ガスを用いて筋肉内と同様な Fe^{II} 型と Fe^{III} 型の各 Mb の分布割合を抽出液中に再現維持することにある。ところで NAUGHTON ら[3]はマグロ肉につき MMb の方がオキシ型よりも抽出せられ易いと記しているが，本実験においては Table 1 からも推察し得るように左様な事実は見られなかつた。同表ならびに Mb 標品の添加回収試験の結果から見て概ね所期の目的を達し得たと思う。

（ii） 抽出液の濁り除去はホンマグロでは多くの場合極めて容易，かつほぼ完全に行い得たがメバチではやや困難なことが多く，一般に試料肉の pH が高いものほど濁りの除去は困難なようである。しかし前記の式はかような原因に基く測定誤差に対する補正を織込み済みであり，ある程度の濁りは定量に差支えない。

（iii） 普通筋肉中のヘモグロビン (Hb) 量は Mb に比すれば概して極めて少い[4]ので本法でも Hb の存在は無視した。ところで魚類では Mb と Hb との吸収スペクトルが酷似している[2]ので偶々血合肉のごとく比較的 Hb 量の多いものを取扱つた場合でも定量値はそのまま Hb および Mb の合計量としての Fe^{II} 型および Fe^{III} 型別分布割合を示すと見做すことができる。

（iv） 以上マグロ類筋肉を試料とする場合について述べたが，方法の原理は他の魚種や獣畜類にも適用可能な筈である。ただし予め MbCO の α 極大の位置，吸光係数等を測定しておく必要のあることはいうまでもない。

（v） 前記の応用例はいずれも断片的な研究の極く一部を示したものに過ぎないが，これらの結果は MMb

含量が褐変の程度を示す客観的表示法として実用の役に立ち得ることを示している。結果の中には一見奇異にあるいは相互に矛盾しているごとく見えるものもないではないが，これらのことに関しては他日論評を加えたい。今後かような研究を系統的に行うことにより低温貯蔵中の褐変の現象を解明したいと考えている。

後　記　極く最近本研究と目的を同じくする BROUMAND ら[5] の報告に接した。原理は本研究のとは異り，かつ獣肉を対象としたものであるが，予め若干の点で周到の吟味をしておけば魚肉への適用も強ち不可能ではなかろう。ただし酸化に対して不安定なオキシ型の吸光曲線を利用する点精度にやや問題があると思われるが簡便さは一つの長所であろう。

要　　約

凍結貯蔵中の魚肉の変色を研究する目的で肉中の Fe^{II} 型および Fe^{III} 型 Mb を比較的容易にしかもかなり精度良く同時に定量する方法を考案した。

なお本研究費の一部は文部省科学試験研究費によつた。記して謝意を表する。

文　　献

1) 佐野吉彦・橋本周久：本誌，**24**，519 (1958).
2) 松浦文雄・橋本周久：本誌，**20**，946 (1955).
3) NAUGHTON, J. J., FRODYMA, M. M., and ZEITLIN, H.: *Comm. Fish. Abstr.* **11**, No. 9, 9 (1957).
4) 松浦文雄・橋本周久：本誌，**24**，809 (1959).
5) BROUMAND, H., BALL, C. O., and STIER, E. F.: *Food Technol*, **12**, 65 (1958).

船上におけるサバの鮮度保持に対するクロルテトラサイクリン (CTC) 水氷浸漬の効果および CTC の残存量*

富山哲夫・米　康夫

(1959 年 5 月 4 日受理)

EFFECTIVENESS OF DIP IN ICED CHLORTETRACYCLINE (CTC)-CONTAINING SEA WATER ON KEEPING QUALITY OF MACKEREL ABOARD SHIP AND DETERMINATION OF CTC RESIDUE ON THE FISH

Tetuo TOMIYAMA and Yasuo YONE**

Mackerels were placed immediately after being angled in fish hold which contained regular ice and chlortetracycline (CTC)-containing sea water and kept for 6 to 7 days. Freshness and CTC-residue were estimated after landing. Further, a storage experiment at 3∼7°C. was carried out in a store room of ice plant.

When mackerels were held in about 3 ppm CTC-sea water, the CTC residues in the muscle and the skin were found only 0.05 ppm and 0.8 ppm, respectively. When held in about 6ppm CTC-sea water, the residues in the muscle and the skin were found 0.09 ppm and 1.25 ppm, respectively. The distribution pattern of CTC in the muscle showed a sharp decrease in the residue within a 5-mm depth, and no CTC were found in the muscle deeper than 9 mm.

When mackerels were stored at 3∼7°C. after landing, the storage life of both the CTC-treated groups was 7 days as compared with 5 days for the control group. It is of interest that the formation of histamine in the muscle during the storage was greatly inhibited when the fish were dip-treated aboard ship.

東支那海には大型のサバハネ釣漁船が多数操業し，昭和 32 年の統計では 69 隻におよび，漁獲量ではわが国のハネ釣総漁獲高 2513 万貫の約 1/3 はこの海区で漁獲されている。漁船は概ね 100 トン以上，操業期間も約 7 日間にわたるものが多いので，漁獲物の鮮度保持には腐心している。どの漁船もサバを水氷に浸漬して帰港するが，保蔵中に腹割れで内臓や血液が魚艙に流れ出すので，帰港時には水氷はすでに腐臭を発しているのが常である。このような取扱いであるから，鮮度は低下し，サバによる食中毒の危険が多いのも当然である。

水氷中にクロルテトラサイクリン (CTC と略記) を加えて保鮮効果を高める企ては，1955 年富山等[1]によつて漁獲直後のウルメイワシに試みられた。その結果によると，この処理イワシを低温に保蔵した場合，揮発性塩基窒素の増加が遅れるだけでなく，ヒスタミンの生成も少いことが分つた。本研究は水氷中に CTC を少量添加したものにサバを保蔵した場合に，どの程度の保鮮効果があるか，サバ肉中のヒスタミンの生成がどの程度抑制されるか，また肉中の CTC 残存量はどの程度かを知る目的で実施したものである。その結果では肉中のヒスタミン生成の抑制がみられ，予期通り保鮮に優れた効果がえられたので，漁獲物を船上で水氷に保蔵するサンマ，イカ等の他の漁業にもこの結果はよい参考になるであろう。

* 本研究の大要は 1959 年 4 月 3 日の日本水産学会年会（東京都）において発表した。

** 九州大学農学部水産化学教室 (Lab. Fish. Chem., Fac. Agr., Kyushu Univ.).

研究材料および方法

1. 研究材料

第6朝日丸（三瓶漁業協同組合所属）が東支那海（27°45′N, 123°40′E）において，1958年11月2日および3日にハネ釣法で漁獲した体長約30cm，体重380～540gのものを試験に供した。

浸漬用のCTC製剤はCTC 10%，クエン酸10%，および食塩80%の混合物である。

2. 船上におけるCTC処理

右舷の二つの魚艙にそれぞれ3ppmおよび6ppmの試験区を設け，左舷の魚艙にはそれぞれに相当する対照区を設けた。いずれの魚艙にもまず約1.5トンの角氷を入れ，右舷の魚艙のみには予め海水20lにといたCTC液を漁獲直後の魚とともに適当量を加え，氷と魚とCTC液とを順次に入れて，各魚艙とも総計2トンの氷と約3トンの魚で魚艙をみたした。魚艙内の温度は常に0～3°Cを保つように注意した。かようにして右舷の一つにはCTC製剤を計120g (CTCとして12g)，他の一つには計60g (CTCとして6g)を加えた。したがつて2トンの氷が全部溶解すればCTC製剤120g添加魚艙中のCTC濃度は6ppmに，CTC製剤60g添加のものは3ppmとなるはずである。しかし保蔵の当初は高い濃度であつても，氷の融解とともにCTCは希釈され，また一部破壊して濃度は低下するであろうから，魚艙内のCTC濃度は帰港までにかなり変動すると思われる。しかしこの確かめは船に乗組むことなしには困難である。これら試験区の魚艙の水氷は取換えることなく，11月9日帰港し，陸揚げしたので，6～7日間水氷に保蔵したことになる。

3. 鮮度の測定およびCTC残存量の定量

陸揚げしたサバは直ちに急速凍結し，翌日研究室に運び，解凍後に官能検査を行い，皮および肉のCTCを定量した。なお一部は凍結4日後に解凍し，3～7°Cの冷蔵庫に放置し，官能検査，肉の揮発性塩基窒素(VBN)およびヒスタミン量の変化を追跡して保鮮効果を確認した。

VBNの定量はCONWAYの微量拡散法[2]により毎回1尾の肉について実施した。CTCの定量は富山・小林・米法[3]によつた。ヒスタミンの定量には太田氏の簡易法[4]の欠点を改正して用いた。太田氏の方法には発色が試薬の量および反応時のpHにより異る欠点があることを知つたので，つぎのように変改した。魚肉16gに100ccの水を加えてミックサーで混和し，更に50ccの7%三塩化酢酸を混和してから沪過し，沪液を2倍に希釈する。この1ccに0.5cc 1N HClと0.5cc 5% $NaNO_2$とを加え5分間放置した後に0.1%チモルブルーを1滴加え，希苛性ソーダ液でpH 9までに中和し，4% Na_2CO_3の1ccを加えて3分間氷冷する。これに氷冷したヂアゾ試薬 (5cc 0.1% p-nitroaniline in 0.1N HCl + 0.1cc 5% $NaNO_2$)の1ccを加え，氷水中に5分間放置する。つぎに酢酸エチル15ccを用いて発色物質を抽出し，抽出液を2ccの1% Na_2CO_3と0.5ccの濃アンモニヤ水との混液で3回洗滌する。上層を分離し，脱水芒硝を加え，振盪した後，光電比色計で530mμのフィルターを用いて吸光度を測定し，ヒスタミンの標準曲線を用いて換算する。なおこの改良法でも，組織抽出液にあるヒスタミン以外の物質による阻害が著しいので，定量値は過大となり，単に相対的な意味しかもたない。この阻害はイオン交換樹脂によつて除きうることがわかつたので，近く報告する。

結果および考察

Table 1にみられるように，CTC濃度が約3ppmの水氷中に6日間浸漬した場合には，肉への滲透量は平均0.045ppm (95%信頼限界0.033～0.057)，皮へは平均0.797ppm (95%信頼限界0.646～0.948)であり，6ppmの水氷中に7日間浸漬した場合には，肉への滲透量は平均0.091ppm (95%信頼限界0.064～0.118)，皮へは平均1.25ppm (95%信頼限界1.075～1.425)であつた。これらの肉中のCTC残存量は米国およびカナダにおいて3年間ですでに23万トン販売されたCTC処理鶏肉の料理後のCTC残存量に近似している。CTC処理鶏肉を3年間消費した経験では，消費者にアレルギーや耐性菌の発現は全く問題となつていない。したがつてこの程度のCTCを含むサバ肉は生食されても差支えないといえる。

Table 1. CTC residue in muscle and skin of round mackerels which were placed immediately after catch in iced CTC–sea water and stored in it for 6～7 days.

CTC concentration to be obtained after ice being completely melted							
0 ppm		3 ppm		0 ppm		6 ppm	
muscle	skin	muscle	skin	muscle	skin	muscle	skin
ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm
0.01	0.05	0.04	0.70	neg.	neg.	0.08	1.23
neg.	neg.	0.04	0.51	0.01	0.01	0.13	1.05
0.02	neg.	0.05	0.71	0.01	0.01	0.07	1.18
neg.	0.03	0.05	0.92	0.02	neg.	0.10	0.85
0.02	neg.	0.07	1.23	0.01	0.01	0.18	1.17
neg.	0.01	0.05	0.77	neg.	neg.	0.07	1.17
neg.	neg.	0.03	0.65	neg.	neg.	0.08	1.32
neg.	neg.	0.07	0.61	neg.	neg.	0.05	1.32
neg.	neg.	0.02	0.88	neg.	neg.	0.07	1.71
0.01	0.01	0.03	0.99	neg.	0.01	0.08	1.54
		0.045† ±0.012§	0.797† ±0.151§			0.091† ±0.027§	1.25† ±0.175§

† average. § 95% confidence limit.

つぎに皮から肉内部への CTC の滲透残存の様相は Fig. 1 からみて明らかなように，皮下 5 mm の間で急激に減少し，3 ppm 区では 7 mm より深い肉層に，6 ppm 区では 9 mm より深い肉層には検出限界濃度以下であつた。このような濃度傾斜は CTC 液に浸漬処理したサケ[5]，イボダイ[6]，エソ[6]等でえられた結果と類似している。

CTC 処理および無処理のサバを 3～7°C に放置中における鮮度低下の模様を官能検査，VBN およびヒスミン量で追跡した結果は Table 2，Fig. 2 および Fig. 3 のようである。官能検査では無処理区が 5 日で初期腐敗を示したのに，CTC 処理区はいずれも 7 日と延長した。この保鮮効果は Fig. 2 に示した背肉の VBN および Fig. 3 に示した腹肉の VBN によつても多少傾向は認められるが，背肉の VBN が 30 mg･% の値を示す時は腐敗が甚しく進行しており，初期腐敗の段階を示すことはできない。これに対しヒスタミンの増加

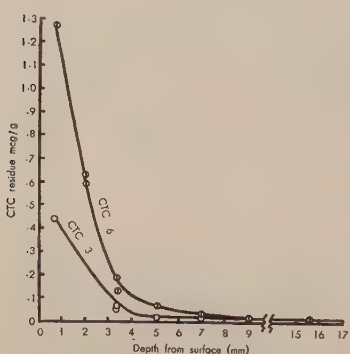


Fig. 1. Distribution of CTC in flesh of mackerel placed in iced CTC–sea water for 6～7 days.
○: dipped in 3 ppm CTC, ⓘ: dipped in 6 ppm CTC.

Table 2. Organoleptic phases* of round mackerels held at 3～7°C.

Date of catch	Days of storage / groups	0	3	5	6	7	8
XI/3	control	Ⅰa	Ⅰb	Ⅱb–Ⅲ	Ⅲ	Ⅳ	
	3 ppm	Ⅰa	Ⅰa	Ⅰb	Ⅱa	Ⅱb–Ⅲ	Ⅲ
XI/2	control	Ⅰa	Ⅰb	Ⅱb–Ⅲ	Ⅲ	Ⅳ	
	6 ppm	Ⅰa	Ⅰa	Ⅰb	Ⅱa	Ⅱb–Ⅲ	Ⅲ

* Ⅰa: Perfectly fresh. Eyes brilliant. Surface fresh, natural color. Gills red. Flesh firm. Odor no fishy. Ⅰb: Eyes slightly sunken, lost brilliancy. Surface natural color. Gills dark red. Flesh slightly soft. Odor fishy. Ⅱa: Eyes opalescent and sunken. Surface natural color. Gills dark red, bad odor. Flesh slightly softer. Odor fishy. Ⅱb: Eyes grey and sunken. Surface lost brilliancy. Gills dark red, bad odor. Flesh softer. Odor stale. Ⅲ: Eyes sunken, hemorrhagic, spotted with bacterial colonies. Surface fading, turbid. Gills fade, slimy putrid odor. Flesh very soft. Odor putrid. Ⅳ: Eyes deeply sunken, hemorrhagic, covered with bacteria. Surface fade, soft, slimy. Gills fade, sticky putrid odor. Flesh very soft. Odor very putrid.

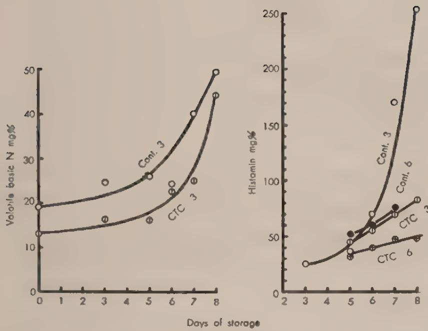


Fig. 2. Change in volatile bases N and histamine of back flesh of round mackerel during storage at 3∼7°C.

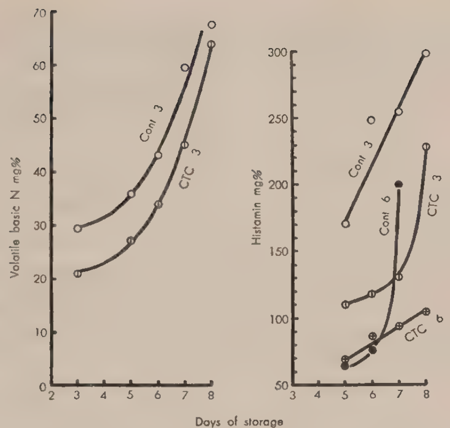


Fig. 3. Change in volatile bases N and histamine of ventral flesh of mackerel during storage at 3∼7°C.

量は鮮度の客観的尺度として適当であることは Fig. 2 および Fig. 3 から明らかである。このことはサバを CTC 水氷で船上保蔵すると，市場から消費者に渡るまでの間にヒスタミンの生成が抑制され，これによる中毒がある程度防ぎうることを示している。

摘　　要

ハネ釣したサバを船上で CTC 水氷に浸漬保蔵し，約1週間後に陸揚げしてから肉および皮への CTC の滲透量を求め，また 3∼7°C に放置中の鮮度保持効果を検討してつぎのような結果をえた。

1. 水氷中の CTC 濃度が約 3 および 6 ppm の場合，肉中への滲透量は 10 尾の平均それぞれ 0.05 および 0.09 ppm であつた。このような筋肉を生食してもアレルギーや耐性菌出現の懸念は全くないことを論議した。

2. CTC は皮下 5 mm まで滲透するが，CTC の内部に向つての濃度傾斜は急であり，また 5 mm 以下は極めて微量であつた。

3. 水氷中の CTC 濃度が 3 および 6 ppm の場合，皮への滲透量は 10 尾の平均それぞれ 0.8 および 1.25 ppm であつた。

4. CTC 処理および無処理のサバを 3∼7°C に放置した場合，無処理が5日で初期腐敗を示したが，処理魚では2日位延長した。

5. 3∼7°C に保蔵したサバの肉中のヒスタミン生成は船上で CTC 処理することによつて明らかに抑制された。

本研究は日本レダリー KK の援助により行つた。また CTC の定量その他には北原慶子，豊田恭平，森健児の諸氏の助力を受けた。ここに特記して謝意を表する。

文　　献

1) 富山哲夫・黒木俊一・前田伝喜・浜田盛治・本田　彰: 本誌, **22**, 120 (1956).
2) CONWAY, E. J.: 1939, Micro-diffusion analysis and volumetric error, p. 75∼81, London. Crosby Lockwood and Son, Ltd.
3) 富山哲夫・小林邦男・米　康夫: 本誌, **24**, 937 (1959).
4) 太田冬雄: 本誌, **24**, 41 (1958).
5) 富山哲夫・米　康夫・小林邦男: 本誌, **24**, 1012 (1959).
6) 米　康夫・富山哲夫・浜田七郎: 本誌, **25**, 158 (1959).

飲食品の汚染指標としての腸球菌に関する研究—I.
腸球菌の分布についての観察

堀 江 進

(1959 年 5 月 4 日受理)

STUDIES ON ENTEROCOCCI AS POLLUTION INDICES OF FOOD AND DRINK—I.
SOME OBSERVATIONS ON THE DISTRIBUTION OF ENTEROCOCCI

Susumu HORIE*

Although the coliform organisms have been employed as indicator for fecal pollution, it is said that these bacteria do not always represent pollution because they may persist in soil and water for long periods of time and occasionally multiply outside the animal body. In this regard, recently, enterococci have received considerable attention. At the beginning of the studies of enterococci as indices of pollution, in the present studies the author have investigated the comparative incidences of enterococci and coliform organisms in feces, soil and water. Although the fecal specimens of man and various animals contained both the organisms in great numbers, thirty-nine of fifty-five specimens contained greater numbers of coliforms than of enterococci. In all samples of soils and waters taken from the various environments coliform organisms were detected with a few exceptions, and throughout all the samples examined the numbers of these organisms were considerably greater than those of enterococci. The fact that coliform organisms were frequently found in uncontaminated soils and waters in mountain suggests that the organisms of this group may be of nonfecal origin or they may survive in such environment for long periods of time.

緒 言

飲食品は最も衛生的に取り扱い処理さるべきは当然のことであるが，しばしば人畜の排泄物によつて汚染される機会の存することはこれまた当然考えられるところである。元来飲食品の衛生学的細菌検査の目的は消化器系病原菌の検出にあつて，その汚染を検知することはこれら疾病の予防衛生上重要な意義を有しているが，しかしこれらの病原菌を直接検出することは甚だ困難であるので，これに代つて現在では検出の容易な大腸菌群の検出によつてその飲食品が糞便により汚染されており消化器系病原菌の存在する可能性を意味するものとし，本菌群を最も重要かつ唯一の汚染指標細菌としている。八田[1]は水の糞便性汚染を検知する方法について述べ，細菌学的試験法では大便による 0.01 ppm のような微量汚染でも検水 1 m*l* について比較的容易に大腸菌群を検出しうるものであるが，このように高度に稀釈された汚染を検知しうる化学的試験法は一つもないと述べ，細菌学的試験法の重要性を指摘している。また同氏は汚染指標細菌の条件としてつぎのような条項をかかげている。

1) 人畜の排泄物に常にかつ大量に存在すること。
2) 病原菌より水中で長く生存するが後には死滅するもの。
3) 検出が容易でかつ速かに行なわれるもの。
4) 人畜の排泄物以外には存在しないこと。

* 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish., Minato-ku, Tokyo, Japan).

以上の条件を充分満足する菌種は恐らく存在しないであろうが，できるだけよくこれらの条件に適うものが汚染指標として選ばれるべきである。大腸菌群は人畜の糞便中に常にかつ大量に存在し検出法も一応確立され，現在最も信頼しうる指標細菌として取扱われているが，一方種々の問題も存在する。すなわち本菌群は動物の体外において相当長期間生存し，また条件によつては増殖することが認められており[2]，また汚染されていないと考えられる水や土壌中にしばしば検出されることがあるので本菌群が常に糞便の汚染を示すとは限らないようである。しかるに腸球菌 (enterococci) は以上のような観点から最近特に重要視されてきた。すなわち本菌は糞便，下水，汚染された水等の中に見出だされるが飲料水，処女地土壌その他，人または動物の生活と無関係の場所からは検出されず，また動物の体外においては特別の高濃度の栄養状態にない限り増殖することは不可能であるといわれている。MALLMANN 等[3] は土壌中で大腸菌群は長期間生存するがこれに反し腸球菌は速かに死滅し，*Salmonella typhosa* はさらに速かに死滅することを観察している。ALLEN 等[4]は水中における *Bact. coli* ならびに *Streptococcus faecalis* の発育に関係した条件について研究し，*Bact. coli* が極めて小濃度の有機物の存在で発育するのに対し *Str. faecalis* は遙かに高濃度の有機物の存在がなければ発育できないことを観察している。人および動物の糞便における腸球菌の菌数は一般に大腸菌群に比しかなり少いようである。OSTROLENK 等[5]は人及び諸種の動物の糞便の 51 検体について enterococci と *Escherichia coli* の分布を比較し前者が後者より菌数の多かつたのは 8 検体（15.7%）のみであつたと報告している。SLANETZ 等[6] は改良した培地によるメンブランフィルター法を用いて水，下水，人および動物の糞便の enterococci および coliform group の測定を行ない，前者の後者に対する比率は従来の報告に比し遙かに大きい数値を示したと述べている。LEININGER 等[7] は河川その他の水中における enterococci と coliform group の菌数を比較し enterococci が汚染度の相異をより明瞭に示す点で coliform group に勝つていると述べている。両菌群の水中における分布に関しては，井戸水について RITTER 等[8] および MORRIS 等[9]，さらに下水については LITSKY 等[10] の研究がある。腸球菌の菌数の測定値はその使用した測定法によつて大いに左右されるので，測定法が次第に改良されつつある現在では古い測定法を用いた数値の意義はうすらぎつつある。大腸菌群の汚染指標細菌としての意義がうすらぎかけてきた今日大腸菌群に代つて腸球菌を糞便汚染の指標細菌とすべきではないかという考えの下に本菌の汚染指標としての価値を論ずるに当り，本菌の自然界における分布状態と糞便汚染の程度とが平行の関係にあるか否かを予め検討することは重要な意義を有すると考えられるので，まず著者は検出率の高いといわれる LITSKY 等[11]の方法によつて人および諸種の動物の糞便，汚染の程度を種々異にした水，土壌等の自然界における腸球菌の分布状態を観察し大腸菌群のそれと比較検討した。

実験材料および方法

1. 材料の採取

動物の糞便試料の採取は東京都立上野動物園，同芝浦屠場，国立予防衛生研究所その他で行なつた。まず滅菌した匙とシャーレを持参し可及的新鮮な試料を採り，直ちに実験室に持ち帰り測定を行なつた。土壌試料は東京都および神奈川県の市街地，郊外地区および山岳地等において深さ約 10cm の部分から採取した。採取の方法は糞便試料の場合に準じた。水の試料は都内山岳地の渓流，諸河川の中流，下流で採取した他に本学附近の数種の汚水についても行つたが，現地に培地，稀釈水およびピペット等を持参し，採水後直ちに稀釈および接種を行ない実験室に持ち帰り培養した。

2. 大腸菌群の測定

糞便試料：採取した試料の中心部分より 5g を秤取し，0.85% NaCl 水 100 m*l* に投じ振盪し懸濁液とした後，さらに常法のごとく 10 倍段階稀釈法によつて 10 段階の稀釈を行なつた。各段階の稀釈液の 1 m*l* を乳糖ブイヨン醗酵管に接種した後，飲料水検査指針[12] に記載された方法に準じ 35～37°C で 24～48 時間培養しガスの産生をみたものは BGLB 培地に移植し 35～37°C で 48 時間培養後ガスの産生をみたものはさらに EMB 平板培地に画線培養し 35～37°C で 24 時間培養し発生した集落について完全試験によつて確認した後，大腸菌群陽性の最高稀釈段階すなわち試料の最小検出量を求めた。

土壌試料：一般土壌試料は 10g を 0.85% NaCl 水 100 m*l* に稀釈しさらに 10 倍の稀釈を行つた。原液 1 m*l* は試料 0.1 g, 10 倍稀釈液 1 m*l* は 0.01 g の試料を含有するものとみなした。試料 1 g, 0.1 g, 0.01 g 宛を各々 3 本の乳糖ブイヨン醗酵管に接種しさらに上記の糞便試料の場合に準じて大腸菌群を確認し MPN

を算出した。山岳地土壌は前記の方法に準じて行つたが試料の 10g, 1g, 0.1g 宛を各々1本の乳糖ブイヨン醱酵管に接種し糞便試料の場合のごとく大腸菌群の最小検出量を求めた。

水試料: 上記の方法に準じ最小検出量を測定した。

3. 腸球菌の測定

何れの試料においても大腸菌群の測定と同時に同じ稀釈液を用いて行つた。LITSKY 等[11] の方法により dextrose azide broth に接種し，37°C で 48 時間培養した後，発育を示したものはその3白金耳を ethyl violet azide broth に移植しさらに 37°C で 48 時間培養し発育を示したものは yeast dextrose agar plate (0.3% yeast extract, 1% peptone, 2% agar, 0.5% dextrose) に分離培養し，代表的集落をとり，dextrose agar slant に培養しグラム染色により形態学的観察を行ない，更に dextrose broth(1% peptone, 0.5% meat extract, 1% dextrose) を用い 10°C および 45°C における発育，6.5% NaCl を添加した dextrose broth ならびに pH 9.6 の dextrose broth における発育および catalase 試験等により腸球菌の確認を行なつた。

実 験 結 果

前記のごとき試料について大腸菌群と腸球菌の分布状態を比較観察した。

1. 人および諸動物の糞便

人および諸動物の糞便の 55 試料について大腸菌群と腸球菌の菌数の比較を行なうにあたり，これらの菌種が検出された最小検出量を F (g) とし，$\log \frac{1}{2F}$ を以つて示した。実験の結果は Table 1 ならびに 2 に

Table 1. Incidence of coliform organisms and enterococci in human and various animal feces.

Sample		$\log \frac{1}{2F}$		Sample		$\log \frac{1}{2F}$	
Source	No.	Coliform	Enterococci	Source	No.	Coliform	Enterococci
Human	1	7	4	Bovine	13	7	2
〃	2	6	5	〃	14	7	4
〃	3	7	4	〃	15	6	2
〃	4	6	4	Pig	11	7	5
〃	45	6	4	〃	18	5	5
〃	46	7	6	〃	19	2	3
Monkey	21	6	4	Sheep	31	5	2
〃	22	6	5	Goat	30	6	3
〃	23	5	6	〃	29	8	7
Rabbit	6	8	3	Antelope	36	7	5
〃	7	8	4	〃	51	6	2
Guinea pig	8	7	6	Deer	40	5	2
Brown rat	9	8	7	〃	55	1	3
Mouse	10	7	6	Hippopotamus	49	4	2
Cat	5	7	7	Giraffe	35	4	3
〃	20	8	4	〃	50	3	2
Leopard	42	4	3	Horse	12	7	5
〃	54	7	4	〃	16	6	4
〃	24	3	4	〃	17	5	5
Lion	41	3	3	Indian elephant	39	1	2
〃	53	4	4	〃	47	3	4
〃	25	5	4	Crane	27	7	6
Racoon	26	7	7	〃	28	7	6
Bear	37	8	6	Cassowary	43	4	4
〃	38	8	7	〃	48	9	4
〃	52	7	6	Snake (Boa)	32	9	6
Racoon-dog	33	6	6				
Fox	34	6	6	Average		5.91	4.45
Dog	44	7	8				

Table 2. Numerical occurrence of coliform organisms and enterococci in feces.

Specimens in which		Number of samples
Coliform less than enterococci		7 (12.7%)
Coliform equal enterococci		9 (16.4%)
Coliform greater than enterococci	by 1	15 (27.3%)
〃	by 2	9 (16.4%)
〃	by 3	8 (14.5%)
〃	by 4	4 (7.3%)
〃	by 5	3 (5.5%)
Total …………………………		55

Comparison was shown as value of log $\frac{1}{2F}$.

示すごとくである。

log $\frac{1}{2F}$ の平均値は大腸菌群 5.91，腸球菌 4.45 で前者が 1.46 の差で大きかつた。55 検体の中で腸球菌が大腸菌群より大きな数値を示したもの 7 検体 (12.7%)，両菌種が等しかつたもの 9 検体 (16.4%)で他の 39 検体 (70.9%) では大腸菌群の方が大きかつた。

2. 土　壌

東京都および神奈県三浦半島方面の市街地，住宅地，農業地，丘陵地等において汚染の程度を異にすると考えられる種々の場所から土壌試料 20 検体を採取し，大腸菌群および腸球菌の MPN を測定した結果を Table 3 に示した。なお本実験は 1955 年 6 月に行なつたものである。

Table 3. MPN of coliform organisms and enterococci in various soil samples (per 100g.).

No.	Sample Source	Coliforms	Enterococci
1	Pine wood in Tamagawadai Park, Ota-ku, Tokyo	11,000	3.6
2	Grass plot in the same park	2,400	23
3	Grass plot in Horai Park, Ota-ku, Tokyo	230	0
4	Roadside bank, Ota-ku, Tokyo	930	93
5	Farm in residential quarter, Ota-ku, Tokyo	>11,000	93
6	〃	>11,000	> 1,100
7	Garden in residential quarter, Ota-ku, Tokyo	11,000	3.6
8	Roadside in residential quarter, Ota-ku, Tokyo	>11,000	43
9	Street in the vicinity of Shibaura Slaughter-house, Tokyo	>11,000	150
10	〃	>11,000	> 1,100
11	Grass plot in the garden of this university	4,600	460
12	Flower-bed in the same garden	1,500	15
13	Wood in the vicinity of the summit of Mt. Miura-fuji	465	0
14	〃	1,450	0
15	〃	750	3.6
16	Wood at the foot of the same mountain	1,200	0
17	Foot-path between rice-fields, Nagasawa, Yokosuka	> 5,500	23
18	Farm in the vicinity of the station of No. 17	> 5,500	23
19	Sea sand at the beach, Nagasawa, Yokosuka	115	43
20	Bamboo thicket along the coastal road, Nagasawa, Yokosuka	> 5,500	240

大腸菌群は総ての試料において検出され，かつ全試料を通じて腸球菌より遥かに大きな数値を示した。[illegible]において，人の糞便による汚染のほとんど考えられぬ[illegible]で，つぎに記載するごとく 3 回に亘り土壌試料の採集を行なつた。

第 1 回　1955 年 9 月 5 日　東京都西多摩郡古里村川井，蝉沢上流　20 検体
第 2 回　1955 年 11 月 2 日　東京都北都留郡丹波山村，三条沢上流　17 検体
第 3 回　1955 年 11 月 16 日　東京都西多摩郡御岳山，滝本沢上流　10 検体
測定の結果を Table 4 および 5 に示した。

Table 4. Incidence of coliform organisms and enterococci in soils of mountain.

Sample		Smallest amount found (g.)		Sample		Smallest amount found (g.)	
Source	No.	Coliforms	Enterococci	Source	No.	Coliforms	Enterococci
Semi-sawa	1	< 0.1	Negative*	Sanjyo-sawa	25	< 0.1	Negative
〃	2	< 0.1	10	〃	26	1	〃
〃	3	< 0.1	10	〃	27	1	〃
〃	4	< 0.1	10	〃	28	< 0.1	〃
〃	5	< 0.1	Negative	〃	29	< 0.1	〃
〃	6	< 0.1	〃	〃	30	10	〃
〃	7	< 0.1	10	〃	31	1	〃
〃	8	< 0.1	10	〃	32	10	〃
〃	9	< 0.1	1	〃	33	< 0.1	〃
〃	10	< 0.1	Negative	〃	34	10	〃
〃	11	< 0.1	1	〃	35	1	〃
〃	12	< 0.1	10	〃	36	1	〃
〃	13	< 0.1	Negative	〃	37	< 0.1	〃
〃	14	< 0.1	10	Takimoto-sawa	38	1	1
〃	15	< 0.1	1	〃	39	< 0.1	Negative
〃	16	< 0.1	1	〃	40	1	〃
〃	17	< 0.1	1	〃	41	< 0.1	〃
〃	18	< 0.1	10	〃	42	< 0.1	〃
〃	19	< 0.1	10	〃	43	1	〃
〃	20	< 0.1	10	〃	44	< 0.1	〃
Sanjyo-sawa	21	1	Negative	〃	45	< 0.1	〃
〃	22	1	〃	〃	46	< 0.1	〃
〃	23	< 0.1	〃	〃	47	10	〃
〃	24	< 0.1	〃				

* Negative with 10 g. of sample.

Table 5. Relative incidence of coliform organisms and enterococci in soils of mountain.

Smallest amount at which organism was found	Number of samples	
	Coliforms	Enterococci
Negative with 10g.	0	31
10 g.	4	10
1 g.	10	6
< 0.1 g.	33	0

腸球菌は 47 検体の中 31 検体において 10 g からですら検出されず，また 1 g から検出されたものは 6 検体にすぎず，0.1 g から検出されたものは全然なかつた。一方大腸菌群は 33 検体において 0.1 g からでも検出され 10 g から検出さない検体は全然なかつた。

3. 水

渓流水の測定は奥多摩方面における土壌試料と同時に行なつた。蝉沢，蝉沢が注ぎ込む大丹波川，三条沢および滝本沢の種々の地点で 29 検体を採取した。また同年 10 月東京都附近の諸河川の中流，下流および本学附近の種々の汚水の試料等 14 検体を採取した。これらについて大腸菌群および腸球菌の最小検出量を求めたが，汚染度の最も高いと思われる汚水の 5 検体については大腸菌群の測定を略した。実験の結果を Table 6 に示した。

三条沢支流および滝本沢上流においては両菌種とも 10 ml 中に検出されなかつた。蝉沢では腸球菌陰性の 3 検体を除いて両菌種とも検出されたが No. 1, 12 および 14 以外では何れも大腸菌群の方が多数存在することを示した。諸河川の中流，下流では両菌種ともに菌数が大となるが大腸菌群の方が大体 1 桁程度大きかつた。血液の混入した屠場の排水は最大の腸球菌々数の存在を示した。

Table 6. Incidence of coliform organisms and enterococci in mountain streams, rivers and other waters.

Sample: Source	No.	Smallest amount found (ml.): Coliforms	Enterococci	Sample: Source	No.	Smallest amount found (ml.): Coliforms	Enterococci
The upper stream of the Semi-sawa	1	1	1	The upper stream of the Takimoto-sawa	27	Negative	Negative
	2	1	10		28	〃	〃
	3	1	10		29	〃	〃
	4	10	Negative	The downstream of the Tama	30	10^{-3}	10^{-1}
	5	$<10^{-1}$	10	The mid-stream of the Tama	31	10^{-2}	1
	6	$<10^{-1}$	10		40	10^{-2}	10^{-1}
	7	1	Negative	The downstream of the Sumida	32	$<10^{-3}$	$<10^{-2}$
	8	$<10^{-1}$	1		37	$<10^{-3}$	10^{-2}
	9	$<10^{-1}$	Negative	The downstream of the Ara-kawa	33	10^{-2}	10^{-1}
	10	$<10^{-1}$	10		36	10^{-2}	10^{-2}
The mid-stream of the Semi-sawa	11	$<10^{-1}$	10	The mid-stream of the Ara-kawa	39	10^{-1}	1
	12	1	1	The downstream of the Edo	34	10^{-2}	10^{-1}
The downstream of the Semi-sawa	13	$<10^{-1}$	1		35	10^{-3}	10^{-1}
	14	1	1		38	$<10^{-3}$	10^{-2}
The mid-stream of the Otanba	15	$<10^{-1}$	Negative	The sea water around this university	41		10^{-3}
The source of the Otanba	16	10	〃		44		10^{-2}
The tributary stream of the Sanjyo-sawa	17	Negative	〃	The ditch-water in the vicinity of this university	42		10^{-2}
	18	〃	〃	The drainage of Shibaura Slaughter-house	43		10^{-4}
	19	〃	〃		45		10^{-5}
	20	〃	〃	The spoiled water of bath-house	46		10^{-2}
	21	〃	〃				
	22	〃	〃				
	23	〃	〃				
	24	〃	〃				
	25	〃	〃				
	26	〃	〃				

考　　　察

大腸菌群並びに腸球菌は人の糞便におけると同程度に多数種の動物の糞便にも見出された。糞便の試料において一般に大腸菌群菌数が腸球菌を凌駕することが観察されたが，これは従来からも考えられていることである。普通の培地において大腸菌群が腸球菌に比して遙かに旺盛に発育することから考えても糞便中におけるこのような菌数の差は起りうることである。著者の用いた LITSKY 等の dextrose azide-ethyl violet azide broth method による腸球菌測定値の信頼性についてはなお検討を要するであろう。NaN_3 が 0.02% および 0.04% 用いられているが腸球菌の中にも NaN_3 に感受性の特に強い菌株が存在して測定値が実際より小さく出る可能性も一応考慮して置く必要もあろう。また本法は腸球菌以外の菌種の発育を完全には阻止できないことを知つた。それがため今回の測定では ethyl violet azide broth に発育したものは総てさらに平板培養を行ない，分離菌株について確認試験を行なつた。

土壌における大腸菌群の分布は極めて広汎かつ濃厚であるらしい。奥多摩地方において特に人の通行のない沢を遡つて源流に登り，釣師等の入る機会の一応考えられない地点に達した後沢を離れ森林に入り試料を採取した。勿論人による新らしい汚染は考えられないが動物による偶発的汚染の可能性が僅かに考えられる。しかるにこれらの土壌試料においてはほとんどの場合において 1g 以内に大腸菌群が検出され，10g [illegible] しているのか，或いはまた糞便に由来するものとすればこれらの菌株は土壌中において極めて長

期間生存しうることを示唆する。何れにしてもこれらの菌株の存在を糞便汚染に直接関連して考えることは困難であろう。山岳地土壌試料の大半において腸球菌は検出されなかつたが，蟬沢方面の試料においては10g または 1g 中に検出されたものが相当にあつた。検出の程度は大腸菌群に比較すれば極めて小さい。大腸菌群の場合と同様これらの腸球菌々株の汚染との関連性を考えることは相当困難であり enterococcus group の中にも糞便に由来しない菌株の存在する可能性をも一応考慮する必要があろう。Table 3 における一般土壌中の大腸菌群菌数も腸球菌々数に比して遙かに大きい。No. 13, 14, 15, 16 等の検体は汚染の可能性の極めて稀少な森林中の土壌であり，腸球菌はほとんど検出されなかつたが大腸菌群は相当大きな数値を示した。全試料を通じて大腸菌群の菌数は腸球菌々数に比し遙かに大きい。両菌群の数値の何れが糞便汚染との関連性において優れているかを簡単に判断することはできない。大腸菌群が腸球菌に比して土壌その他の外界において広汎かつ多数に分布している原因としてつぎのようなことが考えられる。

1. 人および他の動物の糞便中における菌数が大きい。
2. 外界における生存日数が長い。
3. 外界においても条件によつては発育増殖する。
4. 大腸菌群には人および他の動物の糞便に由来しない菌株が外界に相当分布している。

以上の条件の中何れが主要なものであるかは検体によつても大いに異なるであろうが，上記 2, 3 および 4 が主要な原因となつて菌数が大きく現われるような場合が一般的に多いとすれば大腸菌群の汚染指標としての意義はまことに小さくなるであろう。

摘　　要

人およびその他の多数種の動物の糞便の 55 検体について大腸菌群と腸球菌との菌数を比較した。7 検体 (12.7%) で腸球菌々数の方が大きく 9 検体 (16.4%) では両者が等しく，39 検体 (70.9%) では大腸菌群菌数が大きかつた。東京都および三浦半島東南部海岸地方の市街地，住宅地，農業地，丘陵地および人の生活と関係のないと思われる都内奥多摩地方の山岳地等において土壌中の大腸菌群と腸球菌の分布を比較したところ，総ての試料を通じて大腸菌群は検出され，またほとんどの場合腸球菌より遙かに多数見出された。また奥多摩山岳地の渓流，東京都附近の諸河川の中流並びに下流等の水についても両菌種の分布を比較したが渓流の検水の中には両者ともに検出されないものもあつたが，一般に大腸菌群菌数の方が大きいことが確認された。山岳地における大腸菌群の広い分布は本菌群の中に糞便に由来しない菌株が存在するか，或いは本菌群が外界において長期間生存する可能性を示唆するものと考察した。

終りに臨み，著者が本研究に入る端緒を与えられ，かつ指導助言を賜わつた東京水産大学関根隆教授に対し深厚なる謝意を表する。また実験の一部を担当された野口房夫，石井幹郎，石川節の諸氏に対し併せて感謝する。

文　　献

1) 中村敬三・秋葉朝一郎編： 細菌学総論，南山堂，東京 (1954), p. 553.
2) Buck, T. C., Keefer, C. E. and Hatch, H.: *Sew. and Indust. Wastes*, **24**, 777 (1952).
3) Mallmann, W. L. and Litsky, W.: *Am. J. Pub. Health*, **41**, 38 (1951).
4) Allen, L. A., Pasley, S. M. and Pierce, M. A. F.: *J. Gen. Microbiol.*, **7**, 36 (1952).
5) Ostrolenk, M. and Hunter, A. C.: *J. Bact.*, **51**, 735 (1946).
6) Slanetz, L. W. and Bartley, C. H.: *J. Bact.*, **74**, 591 (1957).
7) Leininger, H. V. and McCleskey, C. S.: *Appl. Microbiol.*, **1**, 119 (1953).
8) Ritter, C., Shull, I. F. and Quinley, R. L.: *Am. J. Pub. Health*, **46**, 612 (1956).
9) Morris, W. and Weaver, R. H.: *Appl. Microbiol.*, **2**, 282 (1954).
10) Litsky, W., Rosenbaum, M. J. and France, R. L.: *Appl. Microbiol.*, **1**, 247 (1953).
11) Litsky, W., Mallmann, W. L. and Fifield, C. W.: *Am. J. Pub. Health*, **43**, 873 (1953).
12) 厚生省編： 飲料水検査指針，(1950), p. 135.

GAS CONTENT OF THE BLOOD IN RESPONSE TO THAT OF MEDIUM WATER IN FISH—II. COMPARISON OF THE RESPONSES IN SEVERAL SPECIES

Yasuo ITAZAWA*

(Received May 6, 1959)

In the previous work (ITAZAWA, 1957), the relationship between oxygen content of the arterial blood and oxygen tension in the medium water was investigated using carp, and the curve showing this relationship was found to be, to some extent, similar to the oxygen dissociation curve of blood. In the present paper, this relationship was also studied on five kinds of fish.

The author wishes to express his gratitude to Professor Tamotsu TAMURA for his valuable advise, and to members of the Fisheries Laboratory of Tokyo University for their kind supply of materials.

Material and Method

The fish employed were rainbow trout, *Salmo irideus*, Japanese eel, *Anguilla japonica*, "Suzuki", *Lateolabrax japonicus*, striped mullet, *Mugil cephalus*, and brown-spotted grouper, *Epinephelus fario*. Furthermore, the data on the carp, *Cyprinus carpio* was quoted from the previous paper (ITAZAWA, 1957) for comparison. The size of the fish together with the experimental condition is shown in Table 1.

Table 1. Materials used and experimental conditions.

Species	Measurement of fish		Experimental conditions	
	Total length (cm.)	Body weight (g.)	Temperature of water (°C)	Chlorinity of water (‰)
Salmo irideus	30–35	271–387	2– 9	0
Anguilla japonica	50–53	220–297	11–17	0
Lateolabrax japonicus	28–36	201–630	11–15	5.2–14.5
Mugil cephalus	28–31	186–275	12–19	5.0–10.0
Epinephelus fario	27–35	330–717	13–16	19.8

The method was similar to that described in the previous paper. The fish was kept in still water in a tank (*ca.* 35 *l.*) with a free surface exposed to air, and was bled a few times from the caudal artery. The temperature of the medium water was not controlled in the present experiment. Trout and eel were examined in freshwater, brown-spotted grouper in sea water, and the others in brackish water. The gas con-

* Fish. Inst., Fac. of Agr., Nagoya Univ. Anzyo, Aiti Pref., Japan. (板沢靖男, 名古屋大学農学部).

tent of the blood was determined by VAN SLYKE's manometric method. The oxygen capacity or the oxygen content of the blood equilibrated with air was determined in the following way. About 1–2 m*l*. of blood was equilibrated with air by shaking in the presence of a small quantity of heparin, and then 0.5 m*l*. of the blood was transferred into the extracting chamber of VAN SLYKE's manometric apparatus and analyzed by the routine procedure.

Results

The results of the experiment is summarized in Fig. 1, Fig. 2 and Table 2.

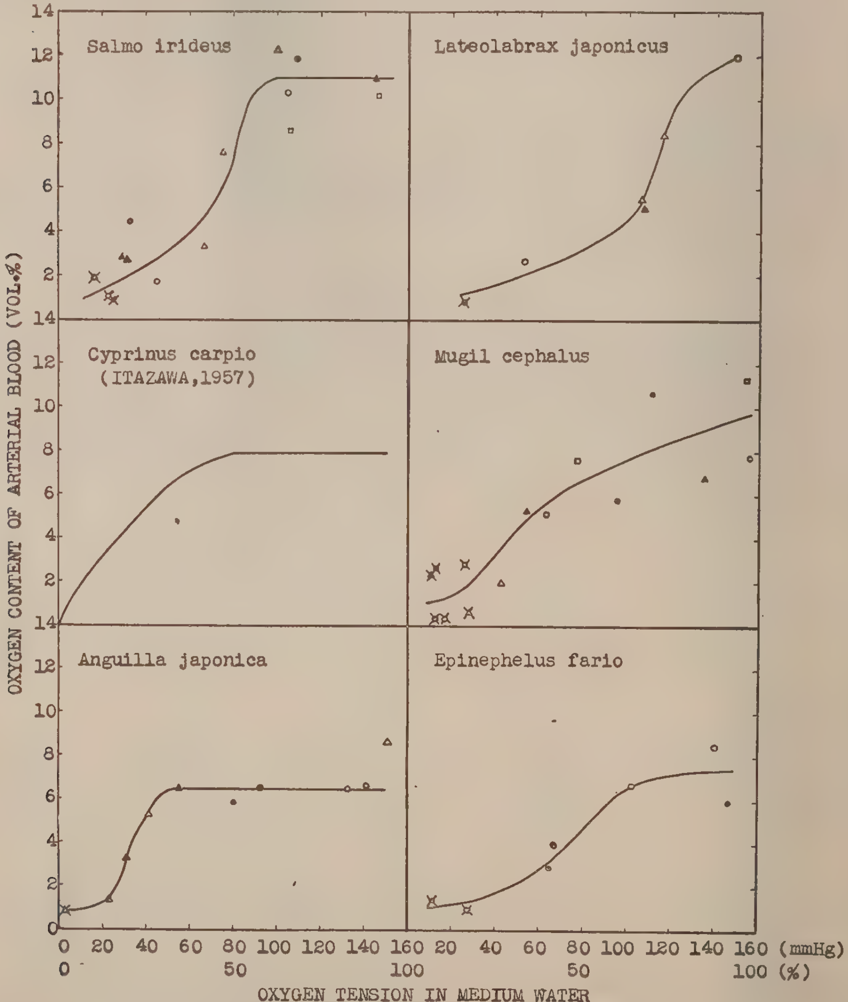


Fig. 1. The relationship between the oxygen content of arterial blood (ordinate) and the oxygen tension in medium water (abscissa).
The same symbol on each curve shows the data from the same individual. The symbol with × (for example, ⌘, ⌘, *etc.*) means the data from the fish presenting manifest symptoms of dyspnoea.

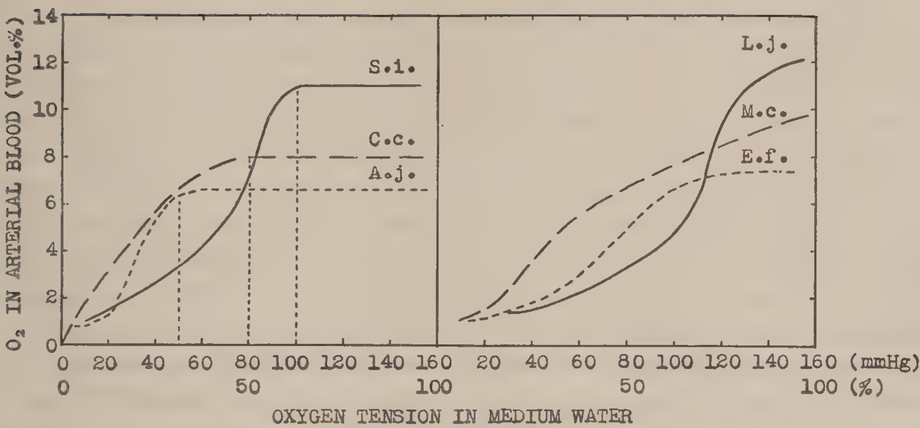


Fig. 2. The relationship between the oxygen content of arterial blood (ordinate) and the oxygen tension in medium water (abscissa).
S.i. means *Salmo irideus, C.c. Cyprinus carpio, A.j. Anguilla japonica, L.j. Lateolabrax japonicus, M.c. Mugil cephalus, E.f. Epinephelus fario.*

Table 2. Oxygen capacity and percentage of oxygen saturation of the blood at the maximum level.

Species	Oxygen capacity (Vol. %)		Maximum level of oxygen in arterial blood. *cf* Fig. 2. (vol. %)	Percentage of oxygen saturation at the maximum level (%)
		Mean		
Salmo irideus	11.0, 11.2	11.1	11	99
Cyprinus carpio	10.6, 10.4	10.5	8	76
Anguilla japonica	11.9, 12.4 9.3, 10.0 9.0	10.5	6.5	62
Lateolabrax japonicus	—	—	12	—
Mugil cephalus	13.7, 16.2 14.7	14.9	10	67
Epinephelus fario	11.4, 11.7	11.6	7.5	65

Discussion

As shown in Fig. 2, the maximum level of oxygen in the arterial blood was the highest (*ca.* 11 vol. %) in *Salmo irideus* among the three species examined in freshwater, the lowest (*ca.* 6.5 vol. %) in *Anguilla japonica*, and intermediate (*ca.* 8 vol. %) in *Cyprinus carpio*. Among the three species examined in brackish or sea water, the maximum level was the highest (*ca.* 12 vol. %) in *Lateolabrax japonicus*, the lowest (*ca.* 7.5 vol. %) in *Epinephelus fario*, and intermediate (*ca.* 10 vol. %) in *Mugil cephalus*. Thus the maximum level of oxygen in the arterial blood differed according to species. This finding seems to have some correlation with the activity of the fish. According

to the observations both in aquariums and in ponds, *Salmo irideus* is the most active species among the three freshwater ones, *Anguilla japonica* the most sluggish, and *Cyprinus carpio* intermediate. Among the three sea water species, *Lateolabrax japonicus* is the most active, *Epinephelus fario* the most sluggish, and *Mugil cephalus* intermediate.

As shown in Fig. 2, the critical tension of oxygen in the medium water to maintain the maximum level of oxygen in the arterial blood was the highest (*ca.* 100 mm. Hg) in *Salmo irideus* among the three freshwater species, the lowest (*ca.* 50 mm. Hg) in *Anguilla japonica*, and intermediate (*ca.* 80 mm. Hg) in *Cyprinus carpio*, indicating that it also differs according to species. This finding seems to have some correlation with the resistivity of the fish to lack of oxygen. According to the observations both in aquariums and in ponds, *Salmo irideus* seems to be the least resistant to lack of oxygen among the three freshwater species, *Anguilla japonica* the most resistant, and *Cyprinus carpio* intermediate. Among the three sea water species, *Lateolabrax japonicus* seems to be the least resistant to lack of oxygen, *Epinephelus fario* the most resistant, and *Mugil cephalus* intermediate. But these sea water species are left without discussion, because the critical tension of oxygen in the medium water to maintain the maximum level of oxygen in the arterial blood of these fish could not be decided in the present experiment.

In conclusion, it may be considered that the maximum level of oxygen in the arterial blood is higher in active fish than in sluggish ones, and that the critical tension of oxygen in the medium water to maintain the maximum level of oxygen in the arterial blood is lower in resistant fish to lack of oxygen than in less resistant ones. However, it must be noted that the present experiment possesses the following defects.

The tension of carbon dioxide in the medium water was neither controlled nor determined in the present experiment. The effect of carbon dioxide on the oxygen affinity is considerable in fish blood. Root (1931) showed that the hemoglobin of fish blood never became completely saturated with oxygen at higher levels of carbon dioxide. But according to pH value, the tension of carbon dioxide is considered to have been fairly low when the oxygen tension in the medium water was high (the right part of each curve in the present paper).

One of the reasons why the maximum level of oxygen in the arterial blood did not reach the oxygen capacity (*cf.* Table 2.) may be due to the effect of confinement in a small tank. Hall (1930) showed that the mackerel could not obtain sufficient oxygen unless swimming freely. In the present experiment, the fish was kept in a tank (50 cm. × 28 cm., depth of water 25 cm.), so they could not swimm so freely. But the effect of the confinement is not considered to have been so extreme in the present case, because the disparity between the maximum level of oxygen in the arterial blood and the oxygen capacity was larger in sluggish species than in active ones.

Kawamoto (1929), Dill *et al.* (1932) and Irving *et al.* (1941) demonstrated the sig-

nificance of the temperature effect on the oxygen affinity of fish blood. However, the fluctuation of temperature during the experiment in each species may not be considered to affect seriously on the results. (*cf.* Table 1.)

Black (1955, 1957a, 1957b, 1957c) demonstrated increase of lactic acid in fish blood unless extreme care is taken to prevent the fish from being excited, and the produced acid may reduce the affinity of blood for oxygen. However the excitement of fish was not so intense in the present experiment, although the minimum excitement during bleeding was inevitable.

As each individual of the fish was repeatedly bled a few times, the loss of blood may have changed the physiological conditions of the fish. But the author confirmed in the previous report that the effect of the repeated bleeding upon the physiological conditions of fish was not so serious as to change of oxygen content of the blood unless the bleeding was repeated too many times (Itazawa, 1957).

All the defects described above which may be included in the present experiment are considered not to have been serious, so it may be concluded that the maximum level of oxygen in the arterial blood and the critical tension of oxygen in the medium water to maintain this level associate with the habit and habitat of the fish.

Summary

1. The relationship between oxygen content of the arterial blood and oxygen tension in the medium water was compared among six kinds of fish. The figure showing this relationship was, to some extent, similar to the oxygen dissociation curve of blood.

2. The maximum level of oxygen in the arteriol blood was higher in the following order: *Salmo irideus* > *Cyprinus carpio* > *Anguilla japonica* among the species examined in freshwater; *Lateolabrax japonicus* > *Mugil cephalus* > *Epinephelus fario* among the species examined in brackish or sea water. These orders seem to have a positive correlation with the activity of the fish.

3. The critical tension of oxygee in the medium water to maintain the maximum level of oxygen in the arterial blood was higher in the following order: *S. irideus* > *C. carpio* > *A. japonica* among the freshwater fish. This order seems to have a negative correlation with the resistivity of the fish to lack of oxygen.

References

1) Black, E. C.: Blood levels of hemoglobin and lactic acid in some freshwater fishes following exercise. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **12**, 917–929 (1955).

2) Black, E. C.: Alterations in the blood level of lactic acid in certain salmonoid fishes following muscular activity. I. Kamloops trout, *Salmo gairdneri*. *Ibid.*, **14**, 117–134 (1957a).

3) Black, E. C.: *Ditto.* II. Lake trout, *Salvelinus namaycush*. *Ibid.*, **14**, 645–649 (1957b).

4) Black, E. C.: *Ditto.* III. Sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka*. *Ibid.*, **14**, 807–814 (1957c).

5) Dill, D. B., Edwards, H. T. and Florkin, M.: Properties of the blood of the skate (*Raia*

oscillata). *Biol. Bull.*, **62**, 23–36 (1932).
6) Hall, F. G.: The ability of the common mackerel and certain other marine fishes to remove dissolved oxygen from sea water. *American J. Physiol.*, **93**, 417–421 (1930).
7) Irving, L., Black, E. C. and Safford, V.: The influence of temperature upon the combination of oxygen with the blood of trout. *Biol. Bull.*, **80**, 1–17 (1941).
8) Itazawa, Y.: Gas content of the blood in response to that of medium water in fish. *Bull. Japanese Soc. Sci. Fish.*, **23**, 71–80 (1957).
9) Kawamoto, N.: Physiological studies on the eel. II. The influence of temperature and of the relative volume of the red corpuscles and plasma upon the hemoglobin dissociation curve. *Sci. Rep. Tohoku Imp. Univ.*, 4th ser., **4**, 643–659 (1929).
10) Root, R. W.: The respiratory function of the blood of marine fishes. *Biol. Bull.*, **61**, 427–456 (1931).

かつお節製造中の遊離アミノ酸の変化*

鴻 巣 章 二・橋 本 芳 郎

(1959 年 5 月 12 日受理)

CHANGE OF FREE AMINO ACIDS DURING THE MANUFACTURING PROCESS OF "KATSUWOBUSHI" (DRIED BONITO)

Shōji Kōnosu and Yoshiro Hashimoto**

Katsuwobushi is a dried product made from bonito meat by boiling, smoking, sun-drying and moulding processes and used for stock. The effects of these processes were investigated by analyzing the extractives of the each step product, especially free amino acids from the view point of its taste. The change of the contents of moisture, total–N, extractive–N and α–amino–N during the process is listed in Table 1 and that of free amino acids determined by the column chromatographic method using an ion exchange resing in Table 2.

The extracts of the raw material reveal a very high value of histidine which occupies about 80% of total free amino acids. The content of taurine, lysine and alanine is also found to be comparatively high, whereas aspartic acid, cystine, tryptophan and arginine are not detected. A portion of each amino acid is lost in the boiling process. During the smoking process, some amino acids increase slightly, others remain almost unchanged, but most of the amino acids decrease again in the course of moulding, perhaps in its earlier stage, judging from the changes of amino–N and histidine.

There have been some discrepancies among the reports on the change of free amino acids in the moulding process, but the present results do not support the opinion that the flavour of Katsuwobushi is improved by the increase of some amino acids due to the moulding.

Trimethylamine oxide disappears in the course of processing and is found to have no connection with the flavour.

かつお節はわが国特有の水産乾製品で調味料として古くから使用されている。その製法には煮熟，焙乾，日乾など多彩な加工法が含まれる外に他の食品に見られない黴付けという独特な方法が用いられる点に著るしい特色がある。したがつて古くから研究者の注意を惹き，かなり多くの食品化学的研究が行なわれている[1,2]。このうち，かつお節の味と関係の深いエキス分，特にその遊離アミノ酸については古典的な方法で分析した窒素分布に関する報告[3-5]，或いは部分的に黴付け中の個々のアミノ酸の変化を微生物定量法により調べた報告[2]があるが，全工程を通じての各アミノ酸の変化を追求した例は見当らない。さらに黴付け中のアミノ酸の変化については従来種々の見解が述べられているが[2-5]，明確な結論には達していないようである。

そこで著者らは目的に叶った工場を選び，製造工程を追つてとった生魚，煮熟肉，生節，本枯節の遊離アミノ酸，トリメチルアミンオキシド等を測定し製造中の変化を追跡し，二，三の興味ある知見を得たので，ここに報告する。

実 験 方 法

試 料　かつお節の製造は東京水産大学焼津実習場に依頼した。製造法は静岡県下で通常行われている

* 本報告は 1958 年 10 月 13 日および 1959 年 4 月 3 日，日本水産学会大会において発表した。

** 東京大学農学部 (Lab. Fish. Chem., Fac. Agr., Univ. Tokyo)

亀節の製法で，その概略と試料採取法はつぎの通りである。

7月初旬沼津港に水揚げされた体重2〜2.5kgのカツオ（*Katsuonus vagans* LESSON）10尾を3枚に卸し（生肉），約1時間煮熟，放冷後（煮熟肉）骨抜きを行ない，引続き水抜き焙乾を行なつた（なまり節）。その後1日1回宛合計8回焙乾を繰返した後表面を削り（荒節），ついで10番黴まで黴付けを行なつたが，途中4番黴終了後の試料も分析に供した。なお試料の黴付け状態は良好であつた。

各段階とも3本ずつを採り，各々を前部，中央部および後部に3分し，各部の中央より採肉，混合して試料とした。

エキス調製法　磨砕した試料100gに水200mlを加え約1時間良く攪拌した後，10%トリクロール醋酸200mlを加えて除蛋白した。なまり節以後は水分がかなり減少しているので，その減少分に相当するだけ水を多く加えて抽出した。抽出液を同量のエーテルで5回浸出，減圧濃縮後定容して分析に供した。

分析法

a. 水分 Radiation Moisture Balance（日本冶金化学工業社製）により測定。

b. 全窒素およびアミノ態窒素　常法による。

c. アミノ酸　イオン交換樹脂カラムクロマト法[6]により各アミノ酸を分離，ニンヒドリン法[7,8]で比色定量。

d. トリメチルアミン（TMA）およびトリメチルアミンオキシド（TMO）DYER法を骨子とする改良法[9]による。

実験結果並びに考察

水分，全窒素，エキス窒素およびアミノ態窒素の変化は Table 1 の通りである。

Table 1. Changes of moisture and various nitrogens during the manufacturing process of Katsuwobushi.

Specimens	Moisture (%)	On dry basis (%) Total-N (TN)	Extractive-N (EN)	$\frac{EN}{TN}\times 100$	α-Amino-N (AN)	$\frac{AN}{EN}\times 100$
Fresh meat	74.3	14.47(100)	2.859(100)	19.8	0.984(100)	34.4
Boiled meat	69.1	13.67(94.5)	2.388(83.5)	17.5	0.723(73.5)	30.3
Namaribushi*	63.4	13.65(94.3)	2.378(83.2)	17.4	0.713(72.5)	30.0
Arabushi**	35.2	13.78(95.2)	2.344(82.0)	17.0	0.702(71.3)	29.9
Intermediate product (after the 4th moulding)	20.0	14.91(103.0)	2.565(89.7)	17.2	0.613(62.3)	23.9
Katsuwobushi§ (Hongarebushi)	15.1	14.21(98.2)	2.219(77.6)	15.6	0.604(61.4)	27.2

* The meat is boiled and smoked once for about an hour.
** The meat after the smoking process (i. e. Namaribushi is smoked 8 times and the tar on the surface removed).
§ The final product after 10 times of moulding.

水分は最初74%であつたのが焙乾により35%にまで低下し，更に黴付け中に減少して最終製品は15%となつた。黴付け中の成分変化については従来水分および脂肪の減少が強調されているが，本実験でも黴付け中の水分減少はかなり著るしいことが認められた。

全窒素は製造中多少増減したが，本枯節の全窒素は原料生肉のそれと大差なかつた。

エキス窒素は煮熟中約17%が失われたが，これは煮熟水中へのエキス分の流失のためと思われる。その後焙乾中はほとんど変化なく，黴付け途中僅かの増加が見られたが再び僅か減少した。またアミノ態窒素もエキス窒素同様焙乾中漸次減少する傾向はあるが，ほとんど変化しない。しかし前二者と異なり黴付け中にかなり減少し，特に黴付け初期にその傾向が著るしいもののようである。

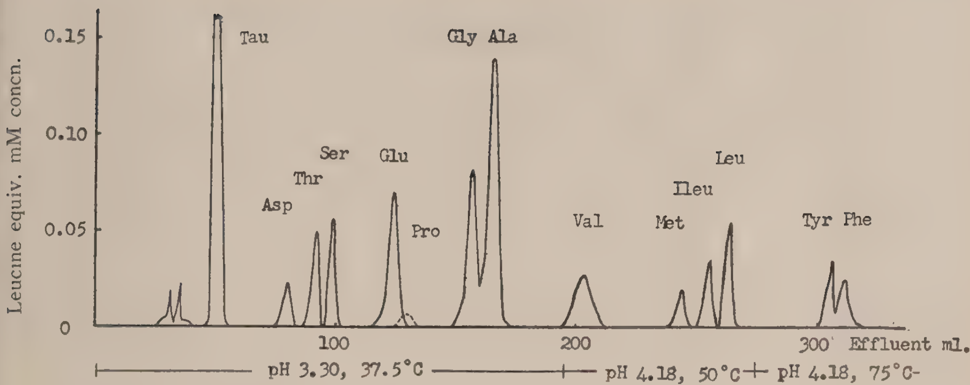


Fig. 1. Separation of acidic and neutral amino acids in the extractives from 0.113 g. of Katsuwobushi on Dowex 50 column (0.9×100 cm.)

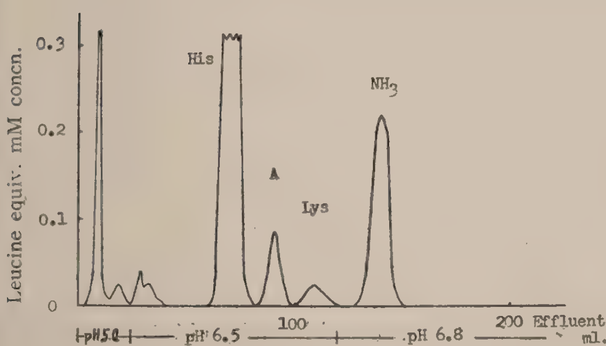


Fig. 2. Separation of basic amino acids in the extractives from 0.0453 g. of Katsuwobushi on Dowex 50 column (0.9×15 cm.)

つぎに Fig. 1 および Fig. 2 にアミノ酸溶出曲線の一例（本枯節）を，また各試料の遊離アミノ酸含量を Table 2 に掲げた。

まず原料肉の遊離アミノ酸の分布を見るとヒスチジンが極めて多いことが目立つ。かつお肉或いはかつお節にヒスチジンが多いことはすでに指摘されているが，本実験の結果によれば実に全アミノ酸の 77% におよびヒスチジン窒素はエキス窒素の 55% 近くに達している。ついでタウリン，リジン，アラニンが比較的多量に存在するが，アスパラギン酸，シスチン，トリプトファンおよびアルギニンは検出しえなかつた。このうちアスパラギン酸は著者の一人が先に報告したごとくスルメイカ[10]およびクルマエビ筋肉エキス中[11]にも痕跡しか認めなかつたものである。

煮熟中の各アミノ酸の流失割合は必ずしも一定ではなく多量に存在するヒスチジン，タウリンなどの残存率が高い。焙乾中大部分のアミノ酸はほとんど変化しないが，ごく僅かではあるが増加しているのに反しヒスチジンのみ多少減少している。

つぎに黴付け中スレオニン，セリンのごとく，ほとんど増減のないアミノ酸もあり，またアスパラギン酸のごとく新たに微量定量されたものもあるが，他のアミノ酸はすべて減少した。なお4番黴を終了した試料についてはヒスチジンのみを測定したが，この結果およびアミノ態窒素の変化から見ると黴付け中のアミノ酸の減少は主として黴付け初期に起るものと考えられる。

以上の結果から煮熟，焙乾，黴付けという一連の操作中に遊離アミノ酸は一般に減少することを知つた。しかし原料肉と本枯節の遊離アミノ酸を比較してみると，その組成には大きな相違はみられない。また黴付けには特定の呈味に関係するアミノ酸を増加させて香味を改善する効果はないようである。

古く山川ら[3]は製造中にモノアミノ窒素は減少し，ヒスチジン窒素は逆に増加すると述べ，最近金沢ら[2]は *Asperugillus ruber* および *Asp. repens* を用いて黴付けを行うとグルタミン酸およびグリシンに顕著な増加がみられ，ヒスチジンは余り変化しないと述べているが，これらの結果と著者らの結果とは一致しな

Table 2. Change of free amino acids during the manufacturing process of Katsuwobushi.

(mg% on dry basis)

Amino acids	Fresh meat	Boiled meat	Arabushi*	Intermediate product (after the 4th moulding)	Katsuwobushi* (Hongarebushi)
Taurine	564	437	515		359
Aspartic acid	(−)	(−)	(−)		9
Threonine	27	13	17		18
Serine	35	13	17		17
Glutamic acid	82	29	54		43
Proline	45	29	30		14
Glycine	47	26	46		27
Alanine	144	84	91		52
Cystine	(−)	(−)	(−)		(−)
Valine	66	23	39		21
Methionine	35	19	17		11
Isoleucine	51	23	35		15
Leucine	78	36	45		29
Tyrosine	8	5	6		4
Phenylalanine	28	19	20		18
Tryptophan	(−)	(−)	(−)		(−)
Histidine	5018	4060	3938	3100	3031
Lysine	261	97	123		88
Arginine	(−)	(−)	(−)		(−)
NH_3	171	143	180		154

* See foot-notes in Table 1.
The sign, (−), means that the amino acid is not detected.

い。また金沢らはヒスチジン含量として乾物中 60～80mg% の値をえているが，著者らの値に比し著るしく低い。

一方中沢ら[5] は優良菌は蛋白の分解作用はほとんどなく，黴の同化作用によつて表面の油，エキス成分等の減少をきたすものとしている。もちろん黴付けには多くの菌種が関係するので菌種の相違によつて各成分の変化の模様が異なることは考えられるが，同氏らが黴付けの意義としてあげている事項は著者らの実験結果からもうなずけるところである。

かつお節の旨味成分としてイノシン酸のヒスチジン塩があげられているが，同じ本枯節について測定したところによると[12]，イノシン酸とヒスチジンのモル比は約 1: 11 で圧倒的にヒスチジンが多いことが判つた。(イノシン酸については次報で述べる。) またしばしば旨味成分にあげられているグルタミン酸について考えると，本枯節を 5% 使用した“だし”でも著者らの分析結果から計算するとグルタミン酸濃度は約 0.002% に過ぎず，グルタミン酸ソーダの閾値 0.03%[13] より遙かに低いことになる。微量のグルタミン酸が他物質と相乗的に呈味を増す場合があれば別であるが，グルタミン酸が単独で直接かつお節の“だし“の味に関与しているとは思われない。なお，かつお節の“だし”は 3% 重量のかつお節を沸騰水に投入し，直ちに加熱を止め 3 分間抽出したものが最も良いという[14]。そこで本枯節を削り上記条件で抽出し，エキス窒素，アミノ態窒素およびヒスチジンを定量してみたが，著者らの用いたトリクロール醋酸エキスの場合と大差ない結果をえた。

Fig. 2 にみられる peak A は各試料に現われるもので，樹脂よりの溶出を 25°C で行うとリジンと重なるが，30°C では図のごとく良く分離する。この部分は PAULI のジアゾ反応陽性で，脱塩後ペーパークロマト法[15]による検索の結果カルノシンとアンセリンの混合物と推定された。

つぎに TMA および TMO の含量を Table 3 に掲げた。両者が生肉エキス中に占める割合は非常に小さい。煮熟中一部流失するものと思われるが，TMO の著るしい減少に対応して TMA の増加がみられた。これは加熱により TMO が一部還元されて TMA に変化したためと思われる[16]。焙乾および黴付け中に

Table 3. Changes of trimethylamine (TMA) and trimethylamine oxide (TMO) during the manufacturing process of Katsuwobushi.

(mg% on dry basis)

	Fresh meat	Boiled meat	Arabushi*	Intermediate product (after the 4th moulding)	Katsuwobushi* (Hongarebushi)
TMA	12	32	28	19	15
TMO	62	3	trace	trace	trace

* See foot-notes in Table 1.

TMO はほとんど消失し，TMA もまた漸減する。TMO は弱い甘味を有し，或る種の水産物，例えばするめ等の呈味成分と考えられているが，かつお節の味には関係しないことが判つた。

要　　約

かつお節製造中の遊離アミノ酸の変化を調べ，つぎのごとき結果をえた。

1) エキスの全窒素およびアミノ態窒素の変化はほぼ平行し，煮熟中に一部流失するが，焙乾中はほとんど変化なく，黴付け中に減少する。

2) 原料かつお肉中の遊離アミノ酸ではヒスチジンが圧倒的に多く，全アミノ酸の約 80% にも達する。ついでタウリン，リジン，アラニンが多く存在する。

3) 焙乾中遊離アミノ酸はほとんど変化しないか，ごく僅か増加する。ただヒスチジンのみはやや減少する。

4) 黴付けにより大部分のアミノ酸は減少する。この減少は主として黴付け初期に起るものと推定される。

5) 黴付けには或る特定の呈味に関係するアミノ酸を増加させて製品の風味を向上させる効果はないものと考えられる。

終りに臨み御校閲をいただいた佐木論介教授，試料の製造を煩わした東京水産大学沼津実習場並びに実験に協力された前田安彦，香取進一，岡市友利の三氏に深甚なる謝意を表する。

本実験の一部は文部省科学試験研究費によつて行なわれたものである。

文　　献

1) 吉川吉男: “節類”, (1940), 厚生閣, 東京.
須山三千三: 本誌, **14**, 254 (1949); **15**, 327 (1949); **15**, 793 (1950).
山本竜男・長崎　亀・苅谷泰弘・高田　和: 日本農芸化学会大会講演 (1958).
2) 金沢昭夫・柿本大壱: 鹿大水産, **6**, 144 (1958).
3) 山川　洵・山本祥吉: 水講報, **8** (10), (1913).
4) 西村寅三・木村金太郎: 同 **8**, (1), (1912).
5) 中沢亮治・武田義人・末松勝利: 日農化, **10**, 1137 (1934).
6) S. Moore and W. H. Stein: *J. Biol. Chem*,, **192**, 663 (1951).
7) E. W. Yemm and E. C. Cocking: *Analyst*, **80**, 209 (1955).
8) 須山三千三・鴻巣章二: 本誌, **23**, 555 (1958).
9) 橋本芳郎・岡市友利: 同, **23**, 269 (1957).
10) 鴻巣章二・秋山明子・森高次郎: 同, **23**, 561 (1958).
11) 鴻巣章二・秋山明子・森高次郎: 同, **23**, 565 (1958).
12) 藤田孝夫・橋本芳郎: 同, **25**, 312 (1959).
13) 小川鉄雄: “味の素”, (1956), p. 104, 味の素株式会社, 東京.
14) 大石圭一: 私信.
15) T. Wood and A. E. Bender: *Biochem. J.*, **67**, 366 (1957).
16) 佐々木林治郎・藤巻正生・小田切敏: 日農化, **27**, 424 (1953).
E. B. Vaisey: *Can. J, Biochem. Physiol.*, **34**, 1085 (1956).
R. B. Hughes: *Nature*, **181**, 1281 (1956).

食品のイノシン酸含量—II. かつお節

藤田孝夫・橋本芳郎

(1959年5月12日受理)

INOSINIC ACID CONTENT OF FOODSTUFFS—II. KATSUWOBUSHI (DRIED BONITO)

Takao FUJITA and Yoshiro HASHIMOTO*

The change of nucleotides during the manufacturing process of Katsuwobushi was examined on the same specimens described in the previous paper which dealt with free amino acids and other constituents in the extractives.

As shown in Table 1 and Fig. 1, inosinic acid is a predominant component occupying about 90% of the total acid soluble nucleotides, which contain only small amount of adenosine mono-, di-, and triposphates. Inosinic acid is lost to some extent during the manufacturing process, mainly in boiling and smoking processes, but it is fairly well retaind by the final product. Adenosine triphosphate, on the contrary, disappears in the process.

The results on various kinds of the commercial product are listed in Table 2, which shows that the inosinic acid content considerably varies with samples and has no definite relation with the place of production or the grade of quality. It is also found that the values are much higher than those reported so far. The histidine content estimated on six specimens ranges from 2.8 to 3.9% on dry basis and the molar ratio of histidine to inosinic acid from 9 to 25.

かつお節は古来良好な“だし”として用いられているが，その味は種々の呈味成分の複合したものと考えられる。古く小玉[1]はかつお節エキス中に多量のイノシン酸が存在し，かつイノシン酸ヒスチヂン塩が特有の旨味を呈することを認めた。以来イノシン酸はかつお節呈味成分の主要なものと考えられ，各種製品の含量および製造中の消長について種々研究がなされている。しかし古い研究に採用されている定量法は不備で，正確なイノシン酸量を示したものとは考え難い。われわれは前報[2]に示したようにイオン交換クロマト法により精度良く定量できることを確認したのでこの方法を用い，かつお節製造中のヌクレオチドの消長を調べ，産地および品等の異る各種かつお節のイノシン酸含量を定量した。一方かつお節に極めて多量存在し，味に相当関与するともいわれているヒスチヂン含量を数種のかつお節について定量した。以上の結果を取りまとめて報告する。

実験方法

試料　製造過程中の変化を調べた試料は，エキスの遊離アミノ酸組成の変化を報告した前報[3]のものと全く同一で，東京水産大学沼津実習場で作成したものである。また産地および品等の異る各種かつお節は市販の本枯節を用いた。

エキス調製法　製造過程の試料は生肉よりなまり節まではグラスホモゲナイザーを用い，荒節以後は乳

* 東京大学農学部 (Lab. Fish. Chem., Fac. Agr., Univ. Tokyo)

鉢を用いて氷冷しつつ磨砕抽出した。抽出には試料 5g を 10% 過塩素酸 15ml，ついでその残渣を 5% 過塩素酸 10ml とともにそれぞれ 15 分間磨砕した後残渣を稀過塩素酸で洗い，抽出液，洗液を合わせ 5N 苛性カリで中和した。つぎに生じた沈澱を冷水で 2 回洗い洗液を母液に加え，試料エキスとした。なお煮熟肉以後の試料は生肉よりの水分の減少量に相当する量の水を加えて抽出を行ない，残渣，沈澱の分離は遠心分離によつた。また各種かつお節は表面の黴を除いた後，かつお節を 4 等分する位置を長軸に垂直に鋸で挽き生じた粉末を混合して試料とした。この 1g を乳鉢中で氷冷しつつ 4 %過塩素酸 10ml で 20 分間抽出しそのままアンモニヤアルカリ性として分析に供した。またヒスチヂンは上記のかつお節粉末 5g より前報[3]の方法に準じてトリクロール酷酸で抽出したエキスを用い定量した。また一番だしは前報[3] 記載の条件で調製した。

定量法　またヌクレオチドの定量は Fig. 1 に示すごとく前報[2]通り行つたが，この際アデノシンヌクレオチドの分子吸光係数は 14200[4] を用いた。また各種かつお節のイノシン酸含量は簡易法（前報[2]の方法C）により，またヒスチヂン，エキス窒素および水分は前報[3] 記載の方法によつて定量した。

実験結果および考察

かつお節製造過程の各段階の酸可溶性ヌクレオチドを定量した結果を Table 1 に示し，また例として煮熟肉エキスのイオン交換クロマトの流出曲線を Fig. 1 に示した。Table 1 のごとくかつお節の原料肉はかなり高いイノシン酸含量を示した。かつお節製造の際，原料の鮮度があまり良過ぎると身割を起すので，ある程度鮮度を落して煮熟にかかるのが

Table 1. Change of acid-soluble nucleotides in the processing of Katsuwobushi.

Specimens*	Moisture (%)	On dry basis (mg.%)			
		IMP	AMP	ADP	ATP
Fresh meat	74.3	822	28	36	23
Boiled meat	69.1	739	51	29	14
Namaribushi	63.4	727	42	26	2
Arabushi	35.2	613	39	16	4
Intermediate product (after the 4th molding)	20.0	574	35	28	0
Katsuwobushi (Hongarebushi)	15.1	568	53	16	0

* See the footnote of Table 1. in the previous paper.[3]
IMP = Inosinic acid, AMP = Adenylic acid, ADP = Adenosine diphosphate, ATP = Adenosine triphsphate.

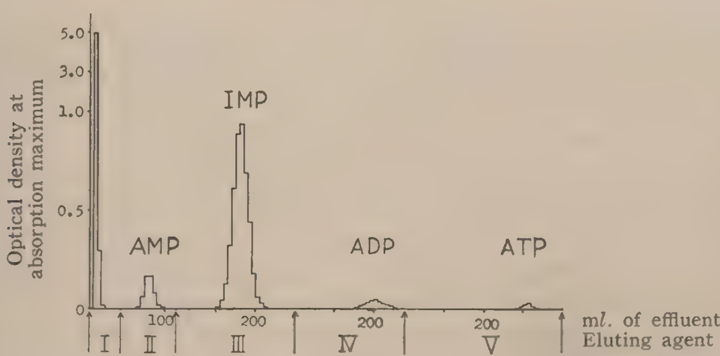


Fig. 1. Ion-exchange chromatography of extracts of boiled bonito meat.
Exchanger: Dowex 1, X 4, 200 to 400 mesh, 0.6 cm². × 6 cm. and formate form.
Eluting agents: I 0.02 M formic acid
II 0.1 M formic acid
III 0.1 M formic acid + 0.05 M sodium formate
IV 0.1 M formic acid + 0.3 M sodium formate
V 0.1 M formic acid + 0.5 M sodium formate
Flow rate: 0.5 ml./min.

普通である。この試料は一晩氷蔵したものを解凍して用いたが，斎藤[5]がコイ肉ですでに観察しているように凍結解凍中に ATP (adenosine triphosphate) がイノシン酸に変化したため高い値を示したものと考えられる。製造過程中イノシン酸は漸減するが，原料肉を煮熟した場合の減少は熱による分解よりも煮熟水中への流失が大きいように思われる。つぎの焙乾の過程における減少は製造工程中最も大きく，荒節より本枯節にいたる黴付中の減少はそれ程著しくなかつた。以上の結果を既往の報告と比較すると山川等[6]はかつお節製造中特に焙乾の工程でイノシン酸が急激に増加しまた黴付中も一般に増加の傾向を示すといつているが，われわれの結果とは相反する。また中沢等[7]は黴付の工程では黴の種類にかかわらずイノシン酸が減少することを報告しているが，これらの研究では塩基性醋酸鉛沈澱物中の燐またはペントースよりイノシン酸量を推定しており，その値もわれわれの測定結果に比べると後述のようにかなり低い。イノシン酸以外のヌクレオチドとして ATP, ADP (adenosine diphosphate) およびアデニル酸の存在が認められたが，イノシン酸はいずれの段階においても全ヌクレオチドの約 90% を占めていた。イノシン酸以外のヌクレオチドの変化としては製造初期における ATP の減少が目立つ程度で，アデニル酸，ADP は大して変化しなかつた。なお四番黴終了の試料中に吸収曲線およびイオン交換クロマトにおける流出位置より uridine diphosphate と思われる物質を微量認めたが同定するにいたらなかつた。

Table 2. Inosinic acid, histidine and extractive nitrogen in various kinds of Katsuwobushi.

The place of production	Grade	Moisture (%)	On dry basis (mg.%)		
			Inosinic acid	Histidine	Extractive -N
土佐 Tosa	1 st class	12.9	416	3274	2467
	2nd class	13.7	687	2804	2457
	fatty	15.2	279	3077	2665
田子 Tago	1 st class	13.0	585	3710	2407
	2nd class	15.3	915	3921	2472
	fatty	12.9	388	3382	2604
焼津 Yaizu	1 st class	14.1	617		
	2nd class	13.0	351		
	fatty	12.3	732		
薩摩 Satsuma	1 st class	12.7	862		
	2nd class	13.6	489		
	fatty	13.2	515		
三陸 Sanriku	1 st class	13.8	500		
	fatty	13.1	437		

つぎにかつお節は原料の品質，製造法，産地等によりかなりの価格の差がある。そこで Table 2 に示すような産地および品等の異る 14 試料を集めて分析した。その結果イノシン酸含量は従来の報告値（4 乃至 240 mg%[6], 17 乃至 74 mg%[8], 40 乃至 300mg%[9]）に比べてかなり高い値を示している。

また試料によつてその含量の差が大きく，産地および品等との間に関連は認められなかつたが，おそらく原料肉の鮮度等によつて左右されるものと思われる。なおかつお節の品等の決定にだしの味は重要な要素になつているが，この外に外観，色沢，堅さ，だしの濁度，香り等も考慮されるのが慣例で，品等とイノシン酸含量に関連がないのはむしろ当然なことかも知れない。イノシン酸がかつお節の味にどの程度関与するかという点については今後味覚試験を行なつて確める予定である。また上記 14 試料中の 6 試料についてヒスチヂンおよびエキス窒素を定量した結果を Table 2 に併記したが，いずれもヒスチヂン含量が高くかなり一定の値を示した。またかつお節に含まれるイノシン酸ヒスチヂンのモル比を求めるとヒスチヂンが圧倒的に多く，イノシン酸1モルに対し9乃至 25 モルに相当することが判つた。またエキス窒素は測定例は少いが油質の節の方がやや多いようである。

一方吸物に適当とされる一番だし[3]中のイノシン酸を定量したが，過塩素酸抽出の場合の 98.5% を示し，イノシン酸も他のエキス分と同様この程度の煮出し条件で簡単に抽出されることが判つた。

要　　約

（1） イノシン酸はかつお節製造中漸次減少するが，焙乾中の減少が著しく黴付中の変化はそれほど大き

くなかつた。

（2） かつお節 14 試料中のイノシン酸を定量した結果，試料によつて差が大きく乾物中 0.3% 乃至 0.9% の値を示した。

（3） かつお節 6 試料のヒスチヂン含量はいづれも乾物中 3% 乃至 4% の高い値を示した。

終りにのぞみ，御校閲をいただいた住木諭介教授，試料の製造を煩した東京水産大学沼津実習場，ならびに各種かつお節を提供していただいた「にんべん」に深く感謝する。

文　　献

1) 小玉新太郎： 東化，**34**，751 (1913).
2) 藤田孝夫・橋本芳郎・森高次郎： 本誌，**25**，147 (1959).
3) 鴻巣章二・橋本芳郎： 本誌，**24**，307 (1959).
4) R. Bergkvist and A. Deutch: *Acta Chem. Scand.*, **8**, 1877 (1954),
5) T. Saito and K. Arai: *Arch. Biochem. Biophys.*, **73**, 315 (1958).
6) 山川　洵： 水講，**10**，No. 3 (1914).
7) 中沢亮治・武田義人・末松勝利： 日農化，**10**，1137 (1934).
8) 近藤金助・三原寅雄： 日農化，**12**，1088 (1937).
9) 大石圭一： 日農化昭和 33 年大会口頭発表および私信.

かまぼこにおける蛋白・油・水系の研究—IV.
油の混入による足の変化と水分*

池内常郎・清水亘

(1959年5月18日受理)

STUDIES ON PROTEIN-OIL-WATER SYSTEM IN KAMABOKO—IV. EFFECT OF WATER IN KAMABOKO CONTAINING OIL ON JELLY STRENGTH.

Tuneo IKEUTI and Wataru SIMIDU**

The jelly strength of kamaboko was not affected so much by adding water to minced raw meat, as long as the amount of water did not exceed a limit, while when the amount of water exceeded this limit, the strength dropped down remarkably.

It was also found that the more water contained in kamaboko, the more the oil-water emulsion in kamaboko became stable, that is, the decreasing effect of oil mixed with kamaboko to the jelly strength was diminished.

アブラザメ，アブラガレイ等のように含油量の非常に多い魚肉をすつていると油が遊離して，すり身を多数のだんご状に切り離すような現象が起きることをしばしば経験している[1]。このとき少量の水を加えると遊離した油は再びすり身に吸収せられ，個々のだんごはまとまつて均一になるものである。この方法は実作業上非常に便宜を与えるが，水を添加すれば製品が柔らかになりすぎるおそれがある。それを防ぐために澱粉を加える仕方もあるが，その添加量にもおのずから限度があるわけである。

また油の含有量（または添加量）および水の添加量によつて製品の足の強さに影響を受けることも当然考えられる。かまぼこに油を添加しようとする場合および含油量の多い魚肉を取り扱う場合にはこれらの関係をじゆうぶん調べておく必要がある。本実験はこのような目的で行なつた。

実験および実験結果

氷蔵輸送されたシログチを氷で冷却しながら採肉，水晒，脱水，挽肉し，氷塊の存在下で25分間擂潰し，水分を80%とみなして(実際は82.0%であつた)，その一定量にすり身に対し0%，10%および20%の4%食塩水を加えて5分間攪拌し，さらにその一定量にいろいろの量のダイズ油を攪拌しながら滴々混和し，志水・清水[2]の方法によつて成形した。この間すり身は氷で約5°Cに冷却して保ち，成形後室温(18°C)に1時間放置してから100°Cで20分間蒸煮した。1夜放置後志水・清水[2]にしたがつて破断応力および破断伸張を測定し，ヤング率および足の強さを計算した。すり身のpHは6.0 (MR)，原料すり身の含油量は1.65%であつた。結果はFig. 1のとおりである。

同様の実験を同じくシログチで行なつた。ただこの際は擂潰時に多量の氷を入れ，水分含量を多くした点が異なる。すり身の水分を85%とみなして(実験は87.2%であつた)濃度が4%になるように食塩水を加え，その一定量に0%および20%の4%食塩水を加えて5分間攪拌し，さらにその一定量にいろいろの量のダイズ油を攪拌しながら滴々混和して前と同様に成形した。この間すり身は氷で約6°Cに冷却し，

---

* 1955年10月28日，日本水産学会で講演

** 京都大学農学部水産学教室 (Dept. Fish., Kyoto Univ.).

成形後室温 22°C に 40 分間放置し，100°C で 20 分間蒸煮した。1 夜放置後測定を行なつた。その結果は Fig. 2 のとおりである。

破断応力は水分の増加とともに減少する。しかし水分が増加すれば，油の添加による破断応力の減少の影響が小さくなる傾向がみられる。水分の増加による破断伸張の変化は水分が非常に多い場合を除いてはあまり大きくなく，Fig. 1 では 10% の水分添加により 0% の場合よりかえつて破断伸張が大きくさえなつており，Fig. 2 の（水分が非常に多い）場合にも，水の添加による影響はきわめて小さい。また水分量が多くなれば油の添加による破断伸張の低下の程度が小さくなることは破断応力の場合と同様である。

これらの結果から計算した足の強さは，水分含量が少ない場合には水の添加によつてあまり変化が起らない。しかし水の添加量が非常に多ければ急激に足の低

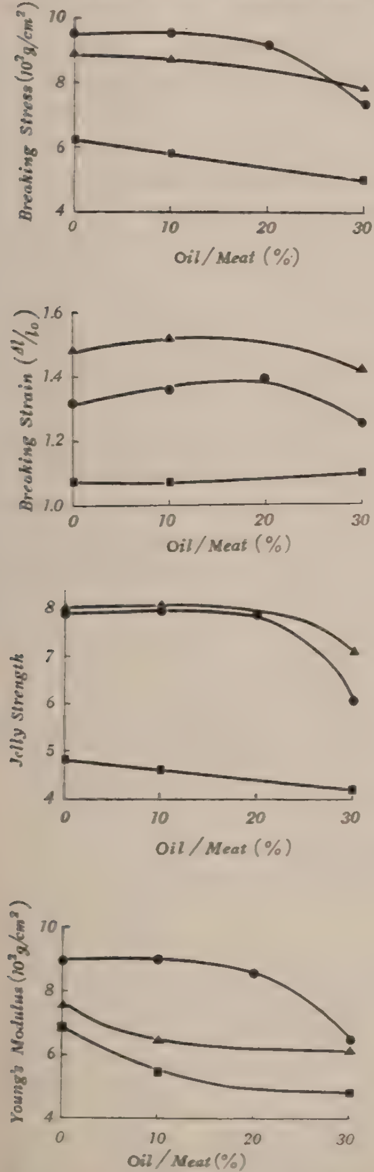


Fig. 1. The effect of oil mixed with kamaboko containing water in different amount to the jelly strength. Added water is shown as follows: ●; 0%, ▲; 10% and ■ 20%.

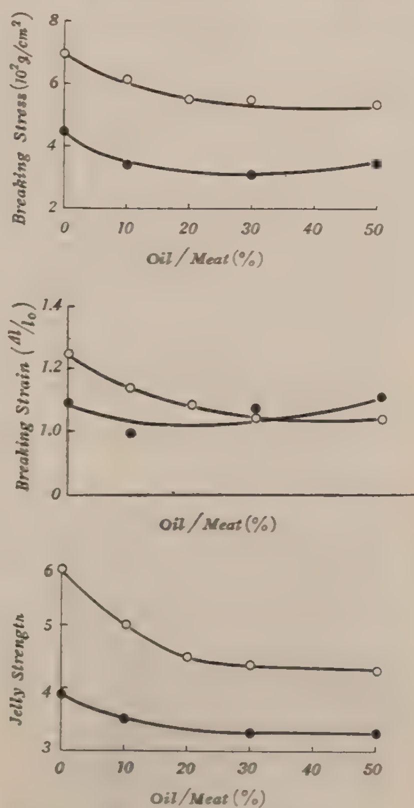


Fig. 2. Same as Fig. 1, whereas minced raw meat was mixed with a large amount of water, futhermore following amount of water was added: ○ 0% and ● 20%.

下が起きる。油の添加により油量がある程度を越せば急に足が低下することは前報でも述べたとおりであるが，水分量が増せばその低下の程度が小さくなる。ヤング率は水および油の増加に伴ない減少する。

考　　察

以上の結果からかまぼこの足におよぼす水の影響は，水分量が小さい間は影響が小さく，伸びはかえつて水を加えたほうが大きくなる場合さえあることが知られた。この伸びは真の足を決める重要な因子になると思われるので，伸びが大きくなることは実質的には足が強くなつているのであろう。計算による足の強さは破断応力の要素が介入し，この要素は硬さに大きく影響されるので，水を加えることによつて減少する傾向があるけれども，それは軟らかさを増すためであつて，この軟らかさの要素を除けば足の強さは増加するかも知れないのである。とにかく水を加えてもあまり足に影響がないということの原因は，まだ溶けないで残つている余剰蛋白が食塩水を加えたために溶解し，それが網状組織の形成に役立つためではなかろうか。水を非常に多く加えると足は急激に落ちるが，これは余剰蛋白が溶解しきつてなくなり，したがつて足の形成能も限度に達し，加えた食塩水は軟らかさを増すのに役立ち，足の低下を起こすことになるのであろう。

水を加えると，それが過度になれば足の低下を起こすのであるが，それに油を加えた場合の足の強さにおよぼす油の影響は，水の添加量が多くなるほど小さくなる傾向にあるということは注目に値する。この事実は水の添加により蛋白・油・水系乳化液を安定化することにほかならぬ。いつたん油を分離したすり身に水を加えると再び安定化するという事実からも容易に理解される。この場合の乳化の安定度における水と油の量の平衡関係についての定量的な数値を求めることは非常に困難であるが，水分量の一定限界すなわちすり身の状態を保つ程度の水分量までは水の量が多いほど油がたくさん入りうる。この理由については外部相と内部相との比が 50: 50 に近づくときその乳化液はしだいに安定になるという説と相反しており，今のところ説明されにくい。水分量が少ないとき油が入りにくいということは乳状液の粘度が高すぎて，油の混入を困難にするということも一つの理由になるであろう。とにかく油がすり身から遊離したとき，水を加えれば再び安定化するということは実際作業上に非常な便宜を与えるものである。

要　　約

（1） すり身に水を加えると，水量が少ない間は足に大きい影響がなく，ある限度を越すと急に足が落ちる。

（2） すり身の水分量が多いほど油の乳化が安定化する。すなわち油の添加による足の変化が小さい。

文　　献

1) 清水　亘: 蒲鉾，1 版，生活社，東京，(1944)，p. 53.
2) 志水　寛・清水　亘: 日水会誌，**19**，596 (1953).

魚肉アクトミオシンの粘度に関する研究—II.
試料の保存による粘度変化

右田正男・鈴木たね子

(1959年6月30日受理)

STUDIES ON THE VISCOSITY OF FISH ACTOMYOSINS—II. VISCOSITY CHANGE OF CARP ACTOMYOSIN SOLUTION ON STORAGE

Masao MIGITA and Tane-ko SUZUKI*

Intrinsic viscosity of a fibrous molecule is equal to reduced viscosity, η_{sp}/c, as both concentration, c and velocity gradient, $\bar{\beta}$, approach zero; thus $[\eta]=(\eta_{sp}/c)_{c\to 0, \bar{\beta}\to 0}$

A tilting viscometer, as reported in the previous paper[1], affords a convenient method for measuring viscosities at varying velocity gradients, but the method requires some 90 minutes for working out a whole measurement. Thus in the present experiment, stability of carp actomyosin solutions are examined, intending to know whether a stock solution could be used in the viscosity measurement as in the case of rabbit actomyosin.

Stock solutions (0.3～0.5% solution of carp actomyosin in 0.6 M KCl) were stored at 2～4°C and 20°C respectively, for 0, 1, 3, 4, 24 hrs., and the solutions were diluted to a definite concentration (0.118%), relative viscosity being measured under varying velocity gradients. When stored at 2～4°C, the viscosity was found to have decreased after 1 hr. and went on to decrease up to 3 hrs., approaching a limiting value (Table 1). When stored at 20°C, relative viscosity of carp actomyosin solution remained unchanged at least within 4 hrs., but after 24 hrs. a considerable decrease in viscosity was observed (Table 1).

The same results were obtained in the similar experiments with the solutions diluted prior to storage to desired concentrations.

Rabbit acotmyosin solution stored at 2°C for 24 hrs. showed no change in viscosity (Fig. 4).

Actomyosin prepared from carp muscle stored at 0°C for 24 hrs. gave the same viscosity as that extracted from the muscle immediately after death (Fig. 8).

Carp actomyosin prepared by 24 hr. extraction gave a lower viscosity than that by 3 min. extraction (Fig. 5).

Carp actomyosin solution showed a decrease in intrinsic viscosity from 4 to 2 after 24 hr. storage (Fig. 1) which corresponds to reduction in the axial ratio from 70 to 50 in the case of a prolate. This considerable decrease in asymmetry of the solute molecule may possibly cause decrease in both structural viscosity and inter-molecular interaction. Actually there was observed decrease in slopes of the curves XZ and XY in Fig. 1, which represent the relations of $(\eta_{sp}/c)_{c\to 0}\sim\bar{\beta}$ and $(\eta_{sp}/c)_{\bar{\beta}\to 0}\sim c$ respectively. The decrease in viscosity of the solution on storage, however, could not be attributable to dissociation of actomyosin into actin and myosin, since in salting-out curves the peak corresponding to actin failed to be observed with the both samples, the freshly prepared and stored solutions (Fig. 7).

The value of η_{sp}/c usually decreases with concentration, c, but abnormal cases were occasionally experienced with stored actomyosin solution. Thus η_{sp}/c took a minimum value

* 東海区水産研究所 (Tokai Reg. Fish. Res. Lab. Chūō-ku, Tokyo, Japan).
東海区水産研究所業績 B 第 320 号

at a certain concentration (Figs. 2 and 3). A series of experiments carried out monthly revealed that this abnormal behavior in viscosity was found always with carps in July and August, and sometimes with carps in June (Table 2).

An obvious difference in viscosity behavior was observed also among freshly prepared actomyosin solutions from rabbit and from carps of the two types (Fig. 10). Thus in rabbit, $ln\ \eta_r/c$ is independent on concentration c, in normal carps increase in $\ln \eta_r/c$ is proportional to c, and in summer carps, the increase is greater than proportional to concentration.

前報[1]において，われわれはアクトミオシンのような糸状の分子ではその溶液の粘度は濃度によつて変るのみならず，流速によつても変化するので，特に試料を特徴づける量の一つとして粘度をはかるときは $[\eta]_{\substack{c\to 0\\ \beta\to 0}}$ を求めるべきであること，及び傾斜型粘度計を用いることによつて，この目的を簡単にはたすことができることをのべ，かつ $[\eta]_{\substack{c\to 0\\ \beta\to 0}}$ を求めるに必要な手段として途中にえられる $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{\bar\beta\to 0}\sim c$, $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{c\to 0}\sim\bar\beta$ の関係は定性的に分子の形および分子間の相互作用の強弱を推定するのに役立つことを論じた。但しこの方法にしたがつて粘度を求めようとすると一連の測定が終るまでに約60〜120分を必要とするので，この間魚肉アクトミオシンが粘度的に安定であることが必要である。前報においてはアクトミオシンの 0.6 M KCl 溶液を 10°C に放置した場合に溶液は数時間安定であることを報告した。ウサギ―アクトミオシンについては，しばしば従来の研究者はまず Stock solution を調製し，これを数日間冷蔵し，その間必要に応じて，あたえられた濃度にうすめて粘度の測定を行なつている。このようなことが魚肉アクトミオシンについても適用されるかどうか。この問題の検討は，粘度の測定にあたつて実験操作にいか程の余裕を持たせることができるかを知るために必要であり，また保存中における蛋白の変性についても智識がえられるので，特にこれらの点について実験を行なつた。

実 験 方 法

実験材料‥‥コイ，シロウサギ

アクトミオシンの抽出‥‥コイの場合は前報[1]にならい，0.6 M KCl で3分間ブレンダーで抽出を行ない，水にてイオン強度 0.2 になるよううすめて沈澱させた。

ウサギの場合は，肉の 10 倍量の 0.6 M KCl, 0.01 M Na_2CO_3, 0.04 M $NaHCO_3$ 溶液を加え，24 時間低温で攪拌抽出を行ない，水を加えイオン強度 0.2 にしてアクトミオシンをおとした。

粘度の測定‥‥傾斜型粘度計を用いて相対粘度，乃至固有粘度 $[\eta]_{\substack{c\to 0\\ \beta\to 0}}$ を求めた。

実 験 結 果

(I) コイ―アクトミオシンの溶液の保存による粘度変化

(i) Stock solution を測定に際して所要濃度にうすめて用いた場合

コイ―アクトミオシンの 0.3〜0.5% の 0.6 M KCl 溶液を調製し，直ちに一定温度に 24 時間保存し，その間適当の濃度にうすめて相対粘度をはかり，また $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{\bar\beta\to 0}\sim c$, $\left(\frac{\eta_{ps}}{c}\right)_{c\to 0}\sim\bar\beta$ の関係を求めた。

実験 1‥‥Stock solution を調製直後および 2°C に 24 時間保存したものについて $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{\bar\beta\to 0}\sim c$, $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{c\to 0}\sim\bar\beta$ および $[\eta]_{\substack{c\to 0\\ \beta\to 0}}$ をもとめた。

その結果は Fig. 1 にみられるとおり 24 時間後の $[\eta]$ は調製直後よりも減少し，$\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{\bar\beta\to 0}\sim c$ および $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{c\to 0}\sim\bar\beta$ の関係を示す曲線 XY および XZ は明らかにねてくる。

実験 2‥‥保存温度 2°C および 20°C，保存時間 0, 1, 3, 4, 24 時間の粘度変化を測定した。ただし，この場合は，いいろの c における $\frac{\eta_{sp}}{c}\sim\bar\beta$ の関係，およびいろいろの $\bar\beta$ における $\frac{\eta_{sp}}{c}\sim c$ の関係を求めることは時間的に余裕がないので，濃度を一定にし，流速をかえた場合の相対粘度の時間的変化を追求する

のみにとどめた。その結果は Table 1 にみられるごとく 2〜4°C の低温度に保存すると調製後 1 時間にしてすでに粘度の低下がみられ，調製後 3 時間まで急速に減少し，その後はほとんど変らない。しかるに 20°C に保存すると，調製後 4 時間までは全く粘度に変化がみられないが，24 時間後にはかなり減少している。（ただしこの実験では調製後 4 時間から 24 時間の間は測定していない。）

実験 3‥‥実験 1，2 の結果を多数の試料について追試を行なつている間に，アクトミオシン溶液の粘度の時間的変化は常に，実験 1 にみられるように $\frac{\eta_{sp}}{c}$ が c の減少とともに，ただ単純に減少するもののみでなくて，あるコイから抽出したアクトミオシンでは溶液を保存しておくと異常な粘度変化を示す場合があることが明らかとなつた。この点を精査するために，この種の試料の Stock solution をそれぞれ 2〜4°C および 20°C に保存し，調製直後，1 時間，2 時間 30 分〜3 時間，24 時間後の $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{\bar{\beta}\to 0}\sim c$ の関係を求めると Fig. 2 および Fig. 3 に示す結果がえられた。

Fig. 2 は 2〜4°C に保存した場合の結果であつて，調製後 2 時間半を経過した溶液では，濃度の低いところ（例えば 0.05% 以下）では濃度が小さくなると還元粘度 $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)$ は逆に増し，$\frac{\eta_{sp}}{c}\sim c$ $\left(\text{または}\ \frac{\ln \eta_r}{c}\sim c\right)$ 曲線に極小点が現われる。このような現象は調製後 24 時間，48 時間，2〜4°C に保存された溶液についてもみられる。

20°C に 4 時間保存した試料についても同様な結果がえられた (Fig. 3)。20°C に 24 時間以上保存したものは沈澱を生じ，すでに変性していると思われるので，48 時間放置の試料については，粘度の測定を行なわなかつた。

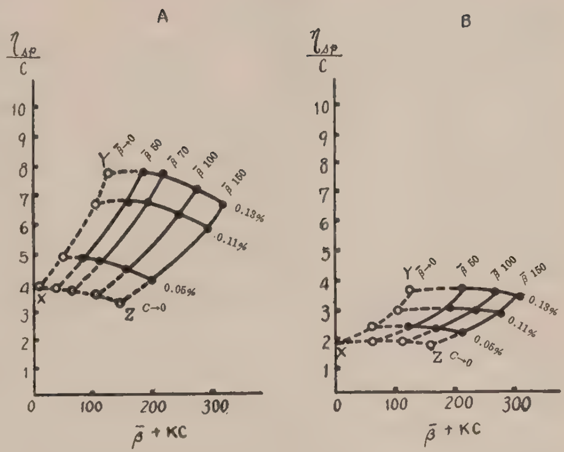


Fig. 1. Viscosity of carp-actomyosin solution (0.6 M KCl) before and after 24 hour storage at 2〜4°C.
A. Before storage, $[\eta]=4.0$
B. After storage, $[\eta]=1.8$

Table 1. Change of relative viscosity of carp-actomyosin on storage.

A

$\bar{\beta}$	Time of storage (Hour)				
	0	1	3	4	24
0	1.75	1.68	1.58	1.58	1.57
50	1.75	1.68	1.58	1.58	1.57
70	1.72	1.68	1.58	1.58	1.56
100	1.72	1.68	1.58	1.58	1.56
150	1.71	1.67	1.55	1.55	1.54
200	1.70	1.65	1.53	1.53	1.52

B

$\bar{\beta}$	Time of storage (Hour)				
	0	1	3	4	24
0	1.75	1.75	1.75	1.75	1.34
50	1.75	1.75	1.76	1.75	1.35
70	1.75	1.75	1.76	1.75	1.35
100	1.72	1.72	1.72	1.73	1.35
150	1.71	1.70	1.71	1.71	1.33
200	1.70	1.70	1.70	1.70	1.33

Protein concentration 0.118%
A‥‥Storage at 2〜4°C
B‥‥Storage at 20°C

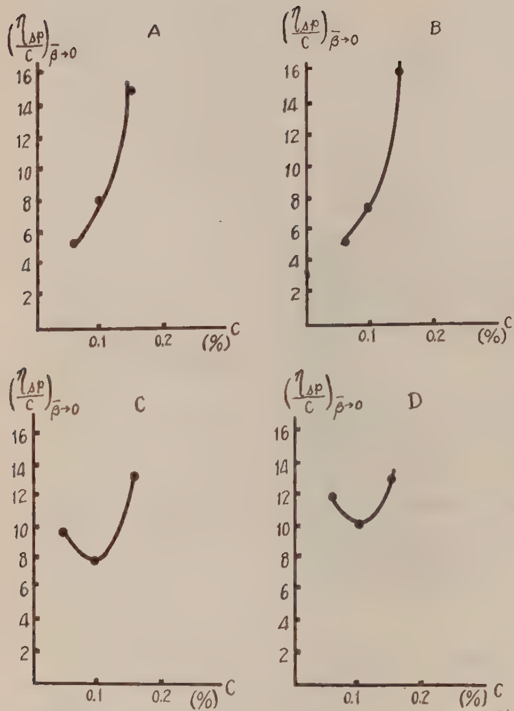


Fig. 2. Change of viscosity of actomyosin solution prepared from summer carp on storage.
A. Before storage. $[\eta]=2.8$
B. After storage for 1 hour at 2~4°C $[\eta]=3.0$
C. After storage for $2\frac{1}{2}$ hours at 2~4°C
D. After storage for 24 hours at 2~4°C

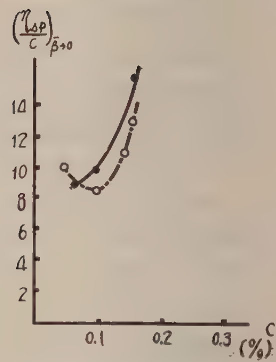


Fig. 3. Change of viscosity of actomyosin solution prepared from summer carp.
—●—, Before storage
—○—, After 4 hour storage at 20°C

(ii) 所要濃度に稀釈した溶液を保存した場合

(i) においては，Stock solution として一定濃度のものを保存し，必要に応じてうすめたが，最初から粘度測定に必要な濃度（約 0.03～0.15% のもの 4 点）の溶液を調製し，そのまま保存して一定時間後にとり出し，(i) と同様に粘度を測定した。

その結果は (i) の場合と全く同様であつた。すなわち，溶液の保存中還元粘度が濃度とともにただ単純に減少する場合と，ある濃度のときに最小となる場合とがあり，そのいずれが現われるかは全く試料の条件（後述）によるものであつて，同一条件の試料は (i) の場合も，(ii) の場合も同様な粘度変化を示した。

保存中還元粘度が単純に減少する場合は 2~4°C に保存されたものは，20°C に保存されたものよりも調製後 4 時間までは粘度の低下が大きいことも (i) の場合と同様である。

(II) 試料によるコイ—アクトミオシン溶液の粘度変化の相異

コイ—アクトミオシン溶液は上述のように試料によつて保存中に還元粘度が濃度とともに下る場合と，ある濃度の時最小となる場合がある。今仮りに前者を正常型，後者を異常型とよぶと，はじめて異常型の現われたのは夏季に実験したものであつて，冬季の実験例の中にはみられなかつた。すなわちどの型が現われるかは魚の個体差でなく季節差によるらしく思われる。この点をたしかめるために年間を通じ，毎月 1~4 回コイのアクトミオシンを抽出し，0.6M KCl 溶液とし，これを放置した場合の粘度変化を追つたところ，$\frac{\eta_{sp}}{c}$ の関係に極小点が出るものは 7~8 月のコイを試料としたものであり，6 月のコイは極小点が現われるものと現われないものとがあつた。試料としたコイは，購入後直ちに殺したもの，約 1 週間畜養（ただし餌は与えない）し，安静状態にしてから用いたものもあるが，これらの影響は認められない。購入先で調べたところ養魚場における飼育方法は 1957 年から現在まで変つていない。したがつて粘度に上記の異常がおこ

るのは全く季節的影響によるコイの生理的変化とみて差支えない (Table 2)。

(III) ウサキ—アクトミオシン溶液の保存中における粘度変化

ウサギーアクトミオシン溶液ではイオン強度が低い場合 ($\mu = 0.4 \sim 0.8$) には PORTZEHL[2] 等によると数日間の保存によつて，粘度の低下はほとんどみられない。PORTZEHL 等は $\bar{\beta}$ のごく高いところ ($\bar{\beta}=2000$) で粘度を測定しているが，$\bar{\beta}$ を0に外挿した時の粘度を測定するわれわれの方法においても，はたして同様なことがいえるか否かを検討するため，0.1〜0.04% の間で4点の濃度を調製し 2°C に保存，調製直後と 24 時間後の $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{\bar{\beta}\to 0} \sim c$ の関係をもとめた。結果は Fig. 4 に明らかなように調製直後も 24 時間後も固有粘度 $[\eta]_{\substack{c\to 0\\ \bar{\beta}\to 0}}$ および $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{\bar{\beta}\to 0} \sim c$ の関係に全く変化がみられなかつた。

(IV) 24 時間抽出によるコイ—アクトミオシン溶液の保存による粘度変化

従来文献によるウサギーアクトミオシンは，24 時間抽出によつて調製されている。しかし，われわれが上記の実験に用いたコイーアクトミオシンは3分間抽出によつて調製されたものである。コイ肉の場合は抽出される蛋白の組成が抽出時間の長短によつてウサギの場合ほど著るしい影響をうけることはないにしろ，何か影響がありはしないかと考え，24 時間抽出によつて調製したコイーアクトミオシンについて前記と同様な実験を行なつた。同一コイを用いて，片身はブレンダーによる3分間抽出を行ない，他はブレンダーにより細かくした肉に 0.6M KCl を加え，24 時間 2〜4°C でゆるやかに攪拌し抽出した。ただし 24 時間抽出をしたものは抽出残渣の外に不溶性のものが上澄中にできたので

Table 2. Seasonal change of viscosity behavior of carp-actomyosin solution

Exp. date	History of sample	$\frac{\eta_{sp}}{c} \sim c$	$[\eta]$
Oct. 14, 1957	M→L	Normal	4.5
〃 28, 〃	〃	〃	3.7
Nov. 12, 〃	〃	〃	4.8
May 24, 1958	M→A→L	〃	4.0
〃 28, 〃	〃	〃	3.0
June 3, 1959	M→L	Abnormal	4.0
〃 6, 1958	〃	Normal	4.2
〃 30, 〃	〃	Abnormal	3.4
July 22 〃 〃	〃	〃	4.0
〃 25, 〃	〃	〃	／
Aug. 4, 〃	〃	〃	／
〃 6, 〃	〃	〃	／
〃 12, 〃	〃	〃	／
〃 15, 〃	〃	〃	4.8
Sept. 24, 〃	〃	Normal	2.0
Oct. 2, 〃	〃	〃	4.8
〃 6, 〃	〃	〃	4.2

M··Market, A··Aquarium, L··Laboratory

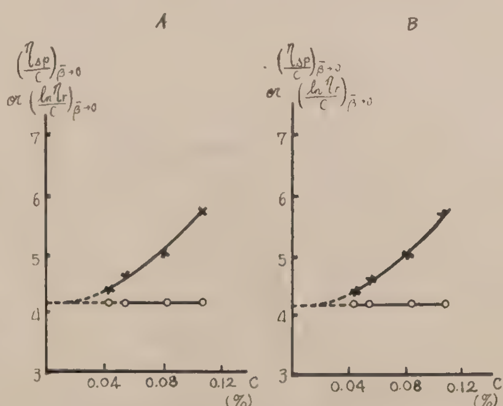


Fig. 4. Viscosity of rabbit actomyosin solution (0.6 M KCl) before and after 24 hour storage at 2〜4°C.

—×— $\frac{\ln \eta_r}{c}$, —○— $\frac{\eta_{sp}}{c}$

A····Before storage B····After storage

遠心分離によりこれを除去してからアクトミオシンを沈澱させた。結果は Fig. 5 に示されるが，3分抽出アクトミオシンの固有粘度 [η] は 24 時間経過すると 4.2 から 3.6 に減少し，24 時間アクトミオシンでは 2.2 より 1.0 に減少した。すなわち少なくとも用いた試料については 24 時間アクトミオシンは3分アクトミオシンより調製直後の粘度も低く保存中における粘度の減少が顕著のようである。この結果は 24 時間抽出の場合は3分間抽出の場合に比し，溶出したアクトミオシンが長時間溶液状態におかれていることを考えれば容易にうなずける。なお 24 時間抽出のアクトミオシン溶液の [η] は調製直後でも，3分間抽出のアクトミオシン溶液を 24 時間保存した時の [η] よりも低いことは，24 時間抽出をつづけることにより，

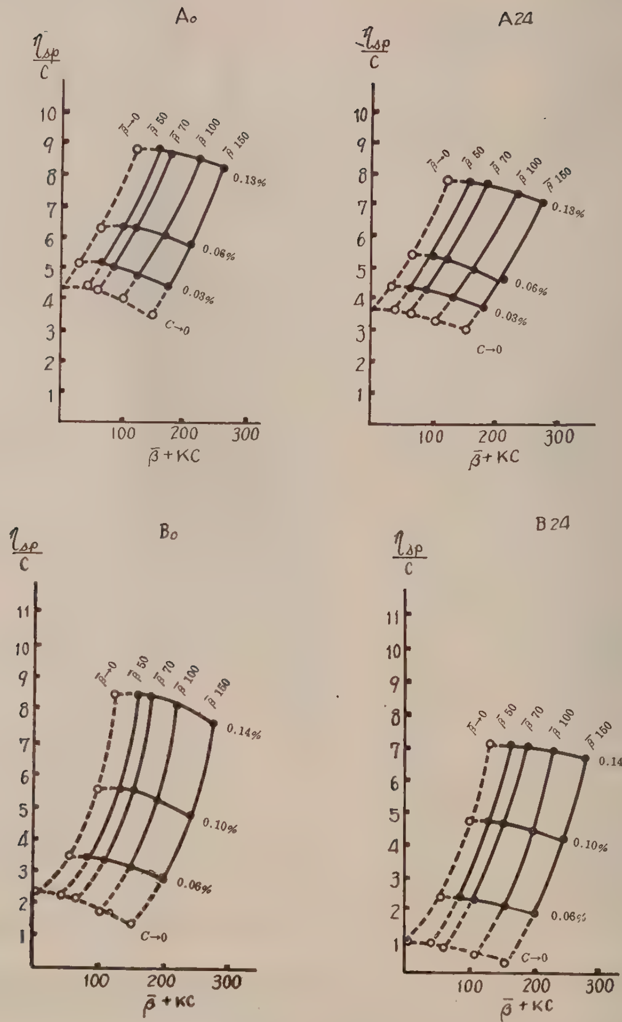


Fig. 5. Change of viscosity of actomyosin solution prepared from carp with different extracting time.

3 min-actomyosin { A_0 ····Before storage; A_{24}····After storage for 24 hours at 2～4°C }

24 hour actomyosin { B_0 ····Before storage; B_{24}····After storage for 24 hours at 2～4°C }

3分間抽出のものとは，蛋白の組成が違つているのであろう。

(V) アクトミオシン溶液の塩析曲線

コイ―アクトミオシン溶液の保存中にみられる粘度変化が蛋白組成の変化に因るものか否かをみるために，塩析曲線の変化をしらべた。一定量の蛋白溶液に濃度の異なる一列の硫安溶液をを加え 24 時間放置後沪過し，沪液の波長 278 mμ における吸光度 (S) を測定し，S～C（硫安濃度）図を作り，図上 $-\Delta S/\Delta C$

を求め硫安濃度に対し図示した[3] (Fig. 6, 7)。

（i） ウサギ—アクトミオシン

ウサギ—アクトミオシンの 0.6M KCl 溶液調製直後の塩析曲線は Fig. 6A のごとくなり，硫安濃度 32～38%*にみられる山はアクトミオシン，40～45% にみられる山はミオシンと推定される。溶液を 2°C に 24 時間放置した後は Fig. 6B のごとく，アクトミオシンおよびミオシンと推定される 2 つの山の分離は前ほどはつきりしなくなる。ただし η_r の値は Table 3 にみられるように溶解直後と 24 時間後とで全く変つていない。しかし 2°C に 48 時間放置するとわずかに沈澱を生じ，この沈澱を除去し塩析曲線をもとめると，アクトミオシンの山は平坦になり，硫安濃度 50～60% に新らしい山が現われた (Fig. 6C)。

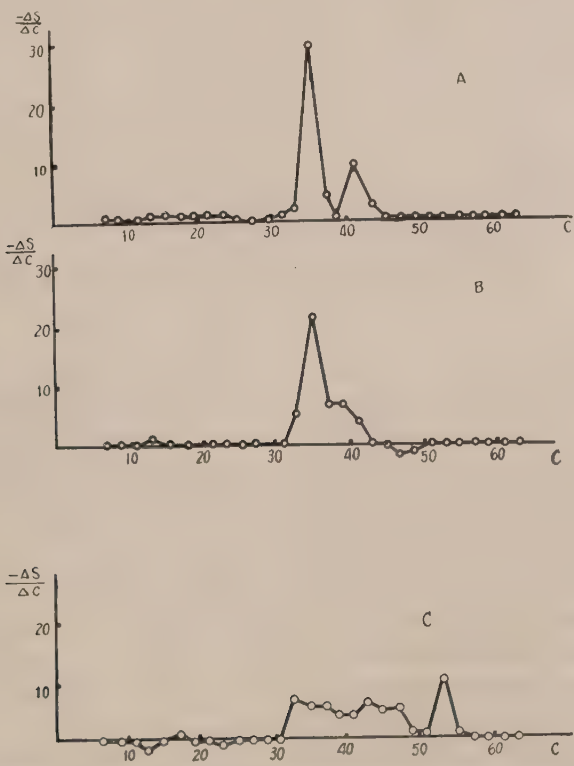


Fig. 6. Salting-out curves of rabbit-actomyosin solution.

S····Extinction at 278 mμ; *C*····Percent (*v*/*v*) of saturated ammonium sulfate solution.

A····Before storage; B····After storage for 24 hours at 2～4°C; C····After storage for 48 hours at 2～4°C

* この値は SNELLMAN 等[3]の 28～32% に比べるとやや高いが, YASUI 等 (*J. Biochem.*, **45**, 717 (1957)) の 28～38%の枠には入る。われわれの試料は“稀釈—沈澱法”による再精製を施されていないが, 抽出条件からいつてアクトミオシンを主成分としていることは疑ない。

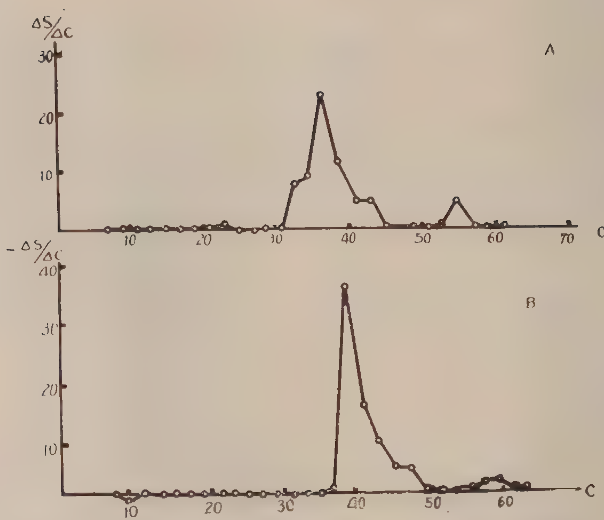


Fig. 7. Salting-out curves of carp-actomyosin solution.
A····Before storage. B····After storage (2°, 24hrs.).
S and *C* are same as in Fig. 6.

(ii) コイ一アクトミオシン

溶解直後のコイ一アクトミオシンの塩析曲線をもとめると Fig. 7A に示されるように，硫安濃度 33～38% にアクトミオシンの山がみられ，さらに 50～60% の間に低い山がみられる。2°C に 24 時間放置すると粘度はいちじるしく減少する(Table 3)が，塩析曲線（Fig. 7B）は山が多少高濃度域にずれた程度で本質的な変りはみられない。

(VI) 肉を 0°C に保存した場合の粘度変化

コイ一アクトミオシン溶液の粘度は前述のように保存中に変化する。したがつて一連の実験を行なう場合，Stock solution を用いることができない不便がある。そこで Stock solution の代りに肉のまま冷蔵した場合を検討した。

Table 3. Specific viscosity of sample solution used in salting-out analysis

Sample	Protein concentration	Time of storage	$\overline{\beta}$	η_{sp}
Carp	0.3%	0	50 60 80	2.00 1.95 1.85
		24	60 80 100	1.27 1.27 1.26
Rabbit	0.2%	0	65 90 120	1.20 1.06 1.04
		24	65 90 120	1.20 1.06 1.04
	0.04%	48	65 90 120	0.40 0.40 0.48

即殺したコイの片身を用いて直ちにアクトミオシンの抽出を行ない，残りの片身をポリエチレンの袋に入れ氷で 0°C に保存し，24 時間および 48 時間後にとり出し，対照（保存前）と全く同一の条件で抽出を行ない，それぞれのアクトミオシン調製直後の粘度を測定した。結果は Fig. 8 に示すように，0°C に 24 時間保存した肉を原料とした場合は，対照と粘度的には同一なアクトミオシン溶液を作ることができる。したがつて一連の実験に長時間を要するときは，試料を溶液として保存せず，肉のまま 0°C に保存し抽出条件を一定にして作つた試料を用うべきである。

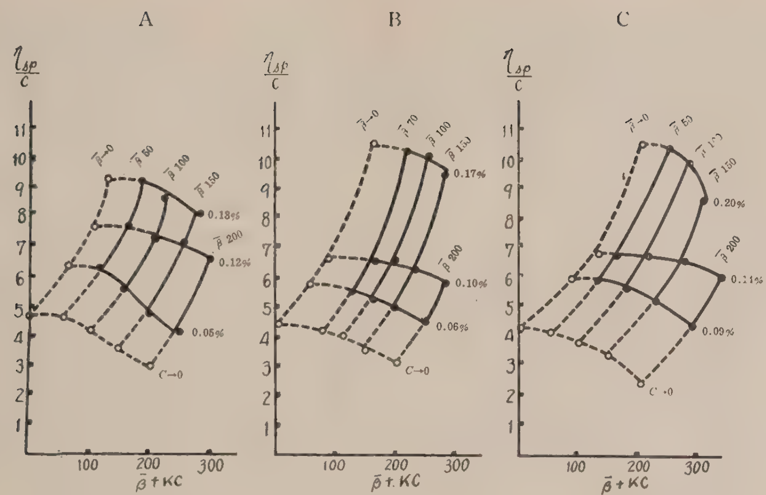


Fig. 8. Viscosity of actomyosin solution prepared from carp muscle stored at 0°C.
A····Before storage. B····After storage for 1 day.
C····After storage for 2 days.

考　　　察

コイーアクトミオシン溶液を24時間放置すると，Fig. 1 にみるように固有粘度は4から2以下に下り，同時に曲線XZおよびXYの傾きは水平に近づいてくる。固有粘度4は分比容（partial specific volume）0.75，水和 33% の細長い回転ダ円体においては軸比 70，固有粘度2は50に相当する。したがつてコイーアクトミオシン溶液を24時間放置すると，アクトミオシン分子の非対称度はかなり減少することがわかる。分子の非対称度が減少すれば，よく知られているように構造粘性は減少し，また分子間の相互作用も減少すると考えられる。このことは曲線XZおよびXYの傾きがゆるくなつていることに示されている。何故ならば前報に論じたように，曲線 XZ の傾きは，$\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{c\to0}\sim\bar{\beta}$ の関係，すなわち濃度の影響の全くない条件の下で還元粘度が流速によつて，どの程度変るか(構造粘性の程度)を示し，曲線 XY の傾きは $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{\bar{\beta}\to0}\sim c$ の関係，すなわち流速が全くないような条件の下で還元粘度が濃度によつてどの程度変るか（分子間の相互作用の程度）を示し，両曲線が水平に近づくことは，それぞれ構造粘性および分子間相互作用の減少を意味するからである。

分子の非対称度の減少の原因としては，分子の side to side の集合，あるいは糸状分子がより丸まつた形になることが考えられるが，そのいずれかを知るには粘度測定の結果だけではできない，別に分子量，分子のひろがりを知る必要がある。

なお，アクトミオシンの場合にはアクトミオシン ⇄ アクチン + ミオシンなる解離も，放置による粘度低下の原因ではないかと一応考えられぬこともない。しかしコイアクトミオシン溶液の塩析曲線をみるに，調製直後と 24 時間放置後の溶液では山の形に多少のちがいはあるが，いずれもアクトミオシンおよびミオシンと推定される山からなり，もし放置後の溶液中に上記のような解離がおきていたとすれば，硫安濃度 10〜20% のところに当然予期されるアクチンの山は全く認められない。すなわち粘度の低下をアクトミオシンの解離によるものとすることはできない。

分子の非対称度の減少は，その機作がいずれにあれ，分子間の相互作用の減少の原因となりうる。非対称度が減少すると分子が互いに機械的にからみあう機会が少なくなるし，またしばしば分子の表面における活

性基の数の減少を伴なうことがあるためである。しかし，コイーアクトミオシン溶液の Methyl-orange との結合量を測定すると溶解直後と 24 時間後とでほとんど差がない[4)]。イオン性色素の結合量は分子の表面にあるイオン性基の分布を大ざつぱに示す尺度と考えられる。したがつてコイーアクトミオシン溶液の放置による分子間相互作用の減少は分子表面のイオン性基の活性の減少によるものではないらしい。

粘度と濃度との関係

実験 (1) および (2) に明らかなようにアクトミオシンの溶液を放置後還元粘度 $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)$ と濃度との関係をみると，ウサギ，夏季以外のコイ，夏季のコイの 3 つの型がある。夏季のコイにみられるように粘度と濃度との関係に極小点が現われることは一見異常のようにみられるが，これは粘度を表わすのに還元粘度をとつたためで，もし還元粘度の代りに相対粘度 (η_r) をとれば，Fig. 9 に示すように夏季のコイでもウサギでもいずれも濃度がへれば粘度は下る。ただそのへり方がちがうのにすぎない。放置した溶液について $\eta_r \sim c$ の関係をみると，今回用いた濃度の範囲ではウサギでは直線，夏季以外のコイでは凹型 (concave) 曲線，夏季のコイでは濃度 0.1% 附近に彎曲点をもち，それ以上は凹型，それ以下では凸型 (convex) の曲線となつている。すなわちウサギでは相対粘度が濃度に比例してへり*，夏季以外のコイでは濃度に比例する以上に粘度がおち，夏季のコイでは 0.1% 以下の濃度では粘度のへり方が濃度に比例するよりも小さいにすぎない。

濃度のごく小さいところでは，分子間の相互作用の影響は小さいから，うすめられることによつて粘度に影響を与えるものは，溶質の占める容積の減少と分子の形の変化であろう。溶質の占める容積は大体濃度に比例するから，ウサギの場合濃度のごく小さいところで，η_r が c に比例しているのは，濃度の減少が粘度におよぼす影響は主として溶質の容積の減少に基くものであつて，溶存しているアクトミオシンの形は溶液の濃度が小さくなつても変つていないのではないかと想像される。これに反してごく低い濃度で粘度が濃度に比例する以上に下る夏以外のコイの場合は濃度が小さくなるとアクトミオシン粒子がまるまつた状態になり，粘度が濃度に比例するよりも高くでる夏の

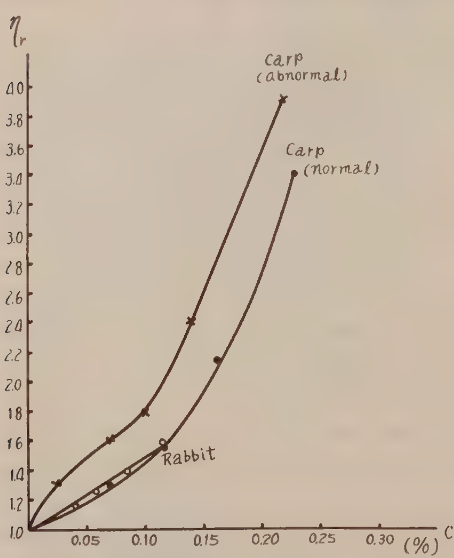


Fig. 9. Dependence of relative viscosity on concentration for carp and rabbit actomyosins.
Carp (abnormal)····Summer carp
Carp (normal)····Carp in other seasons.

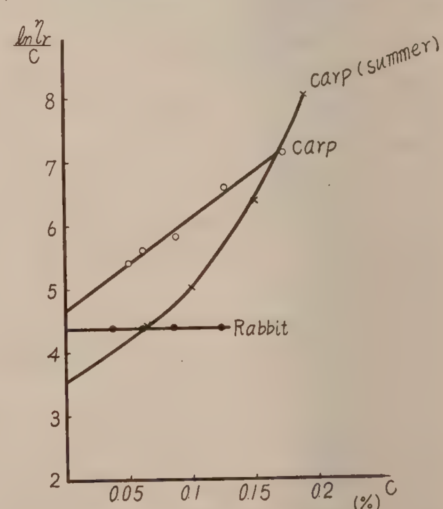


Fig. 10. Dependence of $\frac{\ln \eta_r}{c}$ on concentration for carp and rabbit actomyosins.

* もつと高濃度のところではウサギの場合も凹型曲線となる。

コイでは粒子がひろがつた状態になつているのではないだろうか。ただし，このアクトミオシンの分散状態の変化は，溶液がただうすめられたために起つたものではなく，放置されることによつて生じたものである。何故ならば調製直後の溶液をうすめても上述の粘度変化はみられず，また Stock solution を放置後うすめても，はじめから所要濃度にうすめた液を放置しても同様な粘度変化を示すからである。

粘度に η_r をとり $\left(\frac{\ln \eta_r}{c}\right)_{\bar{\beta}\to 0}\sim c$ の関係をみると常に Fig. 10 に示すように夏のコイ—アクトミオシン溶液は放置後ばかりでなく調製直後においてもウサギや夏以外のコイ—アクトミオシンと明らかに異なるところがある。すなわちウサギ—アクトミオシンでは $\left(\frac{\ln \eta_r}{c}\right)_{\bar{\beta}\to 0}$ の値は c に関係なく一定，夏以外のコイでは c とともに直線的に変化するが*，夏のコイでは c が増すと $\left(\frac{\ln \eta_r}{c}\right)_{\bar{\beta}\to 0}$ の値は c に比例する以上に増す。このことは繰返し行なつた多数の実験によつて確認された。したがつてこのことは実際問題として固有粘度 $[\eta]_{c\to 0, \bar{\beta}\to 0}$ を求めるとき，測定にどの程度時間の余裕をみることができるかを予知するに役立つ。すなわち抽出したアクトミオシンを溶解し，直ちに $\left(\frac{\ln \eta_r}{c}\right)_{\bar{\beta}\to 0}\sim c$ の関係をみてこれが直線関係にあるときは 10～20°C に保存すれば数時間は粘度が安定であるが，曲線になれば調製直後の溶液について粘度をはかる以外いずれの温度に保存しても，時間の経過とともに，$\frac{\eta_{rp}}{c}\sim c$ $\left(\text{または } \frac{\ln \eta_r}{c}\sim c\right)$ の関係に極小点が現われ $[\eta]$ を求めることはできない。

摘　　要

1) コイ—アクトミオシンの 0.6M KCl 溶液を 2～4°C に 24 時間保存すると，保存前にくらべて，その $[\eta]$ は減少し，また $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{\bar{\beta}\to 0}\sim c$，$\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{c\to 0}\sim\bar{\beta}$ の関係から，分子の非対称度，分子間の相互作用が減少することが明らかになつた (Fig. 1)。

2) 上記の関係は Stock solution として保存し，測定時に所要濃度にうすめても，また最初から所要濃度にして保存しても結果は全く同じであつた。

3) ウサギ—アクトミオシンの 0.6M KCl 溶液を 2～4°C に 24 時間保存しても保存前と保存後の $[\eta]$ および $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{c\to 0}\sim\bar{\beta}$，$\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{\bar{\beta}\to 0}\sim c$ の関係に全く変化がみられない (Fig. 4)。

4) コイ—アクトミオシン溶液を低温に保存し，保存前と後の溶液の塩析曲線をもとめたが，蛋白組成に本質的な差はみとめられなかつた (Fig. 7)。

5) アクトミオシン溶液を放置後還元粘度 $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)$ と濃度との関係をみると，夏季のコイから抽出したアクトミオシンは還元粘度と濃度の関係に極小点が現われ放置したものについては固有粘度を測定することができない (Fig. 2, Table 2)。

6) 即殺したコイの肉を 0°C に保存し，抽出条件を一定にして，アクトミオシンを抽出すると，24 時間，肉を保存したものでは保存前と粘度的に全く変化が現われない。故に溶液として低温に保存するよりも肉のまま 0°C に保存した方が粘度的に安定である (Fig. 8)。

実験結果の吟味にさいし有益な御意見をよせられた松本重一郎氏に感謝いたします。

文　　献

1) 右田正男・鈴木たね子： 本誌，**25**，127 (1959).
2) PORTZEHL, H., SCHRAMM, G., and WEBER, H. H.: *Z. Naturforsch.*, 5b, 61～78 (1950).
3) SNELLMAN, O., and TENOW, M.: *Biochim, et Biophys Acta.* **13**, 199～208 (1954).
4) 右田正男・大竹茂夫： (未発表).

* $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{\bar{\beta}\to 0}\sim c$ の関係を求めると夏以外のコイでも凹型の曲線となる。

抄　　　録

Croaker (*Micropogon undulatus*) の洄游　D. S. HAVEN: *Copeia*, (1), 25〜30 (1959).　1949年9月から1950年10月にわたり米国大西洋岸North Carolina の Chesapeake 湾およびその近海で1520尾の Croaker を標識放流した。このうち1340尾には Peterson 標識，180尾には内部標識をつけたが，後者は全く回収されなかつた。材料魚の漁獲方法は Chesapeake 湾では枡網，North Carolina では刺網,沖合ではトロールである。沖合放流魚はほとんど再捕されなかつた。標識魚の大部分は Chesapeake 湾附近の York 河で放流され，その10% 前後が漁業および遊漁で再捕された。移動状態は季節により異り，春には河口および湾内へ，秋には沖合へ移動するが，夏には移動距離も小さくその方向も区々である。また Maryland-Virginia 沖合で秋に放流された魚は North Carolina に移動したが，North Carolina で放流されたものは Chesapeake 湾では全く再捕されなかつた。1950年における巾着網漁獲量は枡網のそれよりも多かつたが，逆に再捕尾数は枡網による方が多かつた。その一因は標識に用いた個体が枡網漁獲物で，しかも標識直後漁場附近で放流されたために枡網で再捕され易かつたことであろう。この他枡網が漁期始めの春に盛んに操業したために，巾着網漁業の対象となる標識魚が減少したことも影響したとも考えられる。1950年における巾着網と遊漁により捕えられた標識魚の再捕経過（再捕までの日数および移動距離）がよく似ている。これが両者の類似性を示すのであれば，遊漁による漁獲量は巾着網漁獲量同様300万ポンドに達したと推定される。(服部)

集魚灯の周りでの魚の行動　J. J. BORISOV: *Trudy Soveschanija po Voprosom Povedenija i Razvedki Ryb*, 121〜127 (1955).　集魚灯の周りでの行動から魚をつぎの4群に分ける。(1) 光をさけるもの，(2) 餌と関連なく光に惹きつけられるもの，(3) 照明帯に餌がある場合だけ光に向うもの，(4) 光への関係があいまいなもの。但し光への関係は年齢，生理状態，外部条件によつて変化する。照明帯での行動を見ると (2) に属するものは光源の周りを回転游泳しこの游泳を続けるうちにますます群が大きくなる。一方 (3) のものの行動は突進的発作的である。この類のものは餌動物の集団の発する音によつて照明帯近くまで招かれるのかもしれない。光源の周りでは典型的には (2) 類のものが中心に，その外側にプランクトン食の魚が，さらにその外側を魚食魚がとりまく。集魚灯を急に消すと魚は興奮状態に入り突進したりはね出したりする。深層 (20〜30 m) が適温で表層温が低すぎまたは高すぎて，その差が5° 以上に達する時は集魚灯を利用して魚を表層にひきよせる試みは成功しなかつた。(児玉)

珊瑚の骨格形成の生理，1. 異なる条件下の珊瑚のカルシウム沈着率測定法　T. F. GOREAU: *Biol. Bull*, **116** (1), 59〜75 (1959).　Ca－45 ($Ca^{45}Cl_2$) を tracer に使い種々の制御した条件下で礁形成珊瑚の Ca 沈着率を正確に測定する方法を記述している。4°C, 28°C, 58°C および 100°C 海水中で珊瑚の骨格と海水との間に緩慢ではあるが充分に感知し得る同位元素の置換が行なわれたが，生体珊瑚ではこの置換に対して組織内に阻害物（脱炭酸酵素抑制物質）を形成するので，多くの場合置換は低い値を示した。脱炭酸酵素抑制物質である Diamox (2 acetyl-amino 1, 3, 4 diathiazole–5–sulfonamide) を加えると，Ca 沈着率は非常に低下した。test された種類では脱炭酸酵素抑制物質の効果と光線の除去とは類似の結果を示した。長期間暗黒中に飼育して zooxanthellae (Calicoblastic gastrodermis に共生している microphyte) を除いた礁珊瑚の Ca 沈着率は多くの場合低下し，光の照度と無関係になるように思われる。礁珊瑚の成長に対して，光は一部分 zooxanthellae を介して影響を与える。暗黒中または zooxanthellae の欠如，あるいは脱炭酸酵素抑制物質の存在によつて，Ca 沈着率が低下するということから，珊瑚の速かな Ca 沈着率は H_2CO_3 の有効な除去に依存しているのではないかということが考えられる。(佐野)

ピラミドンによるヘモグロビンの微量定量法について　P. A. KORZHUEB and L. I. RADZINSKAIA: *Vopr Ixtiol*. **9**, 192〜196 (1957).　著者らはウサギ，ニワトリ，ガチョウ，青ガエル等の血中ヘモグロビンについてピラミドン法 (Storck et Ardry) による定量値と，ガス法 (Van slyke), 鉄法 (Wong), および酸ヘマチン法 (Cohen and Smith) 等による定量値とを比較し，それらの方法の誤差（すべてガス法による定量値に対する）はピラミドン法では1.3〜5.0%，鉄法では4.5〜11.7%，ヘマチン法では1.3〜20.0% であつてピラミドン法がガス法についで精度の高いことを指摘している。本法は比色定量法で，ヘモグロビンにピラミドンを加えるとヘマチンをもつたピラミドンの芳香性環状体を生じ，それが H_2O_2 の作用を受けて violet の色調を呈するという原理にもとづいている。試薬および被検液に対する処法はつぎの通りである。

I	ピリジン (cc)	9
	レゾルシン (g)	1
	ピラミドン (g)	5
	アルコール (96° cc)	100
II	醋　　酸 (cc)	8
	アルコール (96° cc)	約 100
III	0.6% 過酸化水素水	

被検液 0.5cc＋Ⅰ液 2.0cc＋Ⅱ液 1.5cc＋Ⅲ液 1.0cc,（反応時間 45〜60 分後定量する（filter 535 mμ).

ヘモグロビン基準液は血液から用意され，その含有量は予め正確な方法（ガス法）で求めておく。本法の感度は極めて高く，2500〜5000 倍に稀釈された被検液からもヘモグロビン定量ができるので稚魚，小動物等の血中ヘモグロビン定量はもちろん，生体液中のヘモグロビンをも正確に定量し得る。（佐野）

放射線によるオレイン酸およびオレイン酸カリウムのトランス異性化 H.P. PAN, S.A. GOLDBLITH and B.E. PROCTOR: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **35** (1), 1〜5 (1958). オレイン酸の I.V. 89.8 のもの (A) と 89.2 のもの (B) およびオレイン酸カリウムを試料とし，Van de Graff accelerator により陰極線を照射した。トランス異性化程度を知るために，従来水素添加した油脂の場合に使用されている赤外吸収スペクトルの“ベースライン”法に修正を加えて使用した。試料 B は 15×10^6〜70×10^6 rep の範囲で照射し 45×10^6 rep では 2.5%，70×10^6 rep では 9.4% 異性化することを認めた。試料 A は 134×10^6〜401.6×10^6 rep の範囲で照射し，187.4×10^6 rep で 4.9%，401.6×10^6 rep で 14% 異性化することを認めた。これらの結果から，オレイン酸中の不純物が異性化に触媒的に働くものと思われる。またこの反応には，酵素の存在は無関係である。オレイン酸カリウムは，1% 溶液を 1×10^6〜5×10^6 rep で照射し，収率が照射量の増加に伴つて漸減することを認めた。すなわち 1×10^6 rep で 8.1%，5×10^6 rep で 1.9% 異性化する。2.5% 溶液においては 5×10^6 rep で 8.3%，10×10^6 rep では最大で 11.9% となり，30×10^6 rep では 0.1% しか異性化しない。照射量の増大による収率の減少は，ある種の化学変化によるものと思われるが，溶液を照射後放置しても，異性化程度には変化は起らなかつた。（外山）

ラードおよび硬化したラード中の酸化防止剤 (BHA) の紫外部分光分析による直接定量法 P. V. HANSEN, F. L. KAUFFMAN and L. H. WIEDERMANN: *J. Am. Chemists' Soc.*, **36** (5), 193〜195 (1959). ラードおよび硬化したラード (I.V. 10 以下) 中に単独で存在する微量の BHA を定量する方法で，BHA の OH 基による 290 mμ の強い吸収を利用する。測定範囲は 0〜100 p.p.m. で2〜3 p.p.m. の精度を有するが BHT やトコフェロールにより妨害される。またラードよりも軟かい油では抽出液中に油が多量に溶解するために定量の精度は低下する。[抽出]（Ⅰ）硬化ラード: 試料 25.0 g を 250 ml 共栓フラスコにとり加温融解後 $CHCl_3$–10 ml, CH_3OH–100 ml を加え，沸騰直前まで加熱して 1 min. 振盪後氷浴上で冷却して沪過する。試料を再び融かし $CHCl_3$–5 ml, CH_3OH–50 ml による抽出を同様にして 3 回くり返す。抽出液を合して約 10 ml になるまで濃縮し再び冷却沪過後 25 ml とする。（Ⅱ）ラード: 分液漏斗を使用して抽出を行なう外は（Ⅰ）と同じである。[定量] ベックマン DU 分光計により 270 mμ，290 mμ，310 mμ の optical density を測定すれば $d_{1(290)}=(d_{290}-d_{270}-d_{310})/2$ [$d_{1(290)}$＝補正した 290mμ の op. d; d_{270}, d_{290}, d_{310}＝各波長における実際の op. d] で標準曲線を参照して抽出液中の BHA 量を求める。（外山）

油脂ならびに油脂を含む食品の安定性試験法の比較 W. M. GEARHART, B. N. STUCKEY, and J. J. AUSTIN: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **34** (9) 427〜430 (1957). ガソリンの安定性決定に使用されていた A. S. T. M. Oxygen Bomb Method（酸素吸収法）を油脂および加工食品の安定性測定に利用し，従来の A.O.M. や Schaal Oven Test と比較した。Bomb Method は，試料（固体 15g.，液体 30 g）を特殊のガラス容器にとり，これをステンレススチール製の Bomb 中に挿入し O_2 を 100 p.s.i.（ポテトチップでは 50 p. s. i.）充塡し漏洩のないことを確認してから沸騰水中につける。時間の経過に伴う内部圧力の減少を，圧力測定器により連続的に記録し，2 p.s.i./hr 以上の減少を生じた時を誘導期間の終点とする。以上 3 種の方法の相関々係を，ラードおよびポテトチップについて広範囲の安定性を試験するために，その一部に酸化防止剤を添加し，統計的に比較した結果，Bomb Method のデーターは他の 2 法，特に A. O. M. とはかなり良く一致することを認めた。Bomb Method は A. O. M. の 1.4 倍，Schaal Oven Test の 40〜50 倍の短時間で油脂のみならず食品についても実施され正確な結果を与える。操作の単純な点，測定が自働的に記録される点，および少量の試料で間にあう点も都合がよい。（外山）

Oxygen Bomb Method（酸素吸収法）による油脂の安定性測定 B. N. STUCKEY, E. R. SHERWIN, and F. D. HANNAH Jr.: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **35**, (11) 581〜584 (1958). Oxygen Bomb Method が従来の方法に比し極めてすぐれているものの，試料の種類に無関係に誘導期間の終点の判定に均一性を欠く傾向があつた。これは食品中に酸化速度の異なる種々の油脂が含まれるためであるとし容器中の油脂の表面積を増大させることにより比較的反応性の低い油脂の酸化速度を増加させ，誘導期間を短縮し，その終点を明瞭にすることをくわだてた。予備実験により極性の強いセンイ質（実験条件下で不活性で吸着性の強いもの）を展開材として決定し，その 5×9 cm（約 1.5 g）の矩形のものにラード，綿実油，水添植物油のショートニングなどの試料 6 g を展開して Bomb test にかけた。(O_2 圧力，50〜30 p.s.i.). 加工品としてはポテトチップ，パイ，クラッカーの 30 g を ¼〜½ in. にくだき試験し (O_2 圧力，動物油を用いたも 100 p.s.i.，植物油を用いたもの 50 p.s.i.) Schaal Oven Test と比

較した。油脂類は展開材の使用により一般により良い結果が得られ，植物硬化油では，Bomb Method の適用が可能になつたが，植物油の場合は不飽和度が高く爆発性を示すので展開材は使わない方が良いことを認めた。実験の結果から，油脂およびその加工食品を4種類に分類し，適当な試料の量，最初の O_2 圧力，分散剤の使用可否を撰定した。なお誘導期間の終点として 15 分以内に 2 p.s.i. 以上およびその後引きつづき同等以上の圧力を減少する点を以つてし，活性が不充分な試料の場合には 2 p.s.i./hr の減少によることを提唱している。(外山)

魚卵および蛙卵中に見出されたビタミンアルデヒド C. J. POLLAND and J. G. BIERI: *Biochem. Biophys. Acta* **31**, 558〜559 (1959). 最近 PLACK 等 (*Biochem. J.*, **68**, 2P (1958)) は魚卵中にビタミン A_1，アルデヒド (レチネン$_1$) を見出したが，網膜以外に存在するレチネン$_1$ の生理的意義は現在まだ不明である。著者等もまた魚卵および蛙卵よりレチネンを分離した。すなわち，ひき蛙の一種 *Bufo marinus* の腹より採取した卵に 95% エタノールを加え磨砕抽出し，このエタノール抽出液に水を加えてレチネンをヘキサンに移行させ脱水後，減圧下に濃縮乾固し，残渣をふたたびヘキサン溶解させて MgO–Super Cel (1: 1) を用いてクロマトグラフィーを行う。レチネン区分は弱活性化した Al_2O_3 でふたたびクロマトグラフィーを行い精製する。蛙卵レチネンのヘキサンおよびクロロホルム溶液の吸収極大はそれぞれ 370 および 390 mμ で，また glycerol dichlorohydrin との反応生成物の性質もビタミン A_1 を MnO_2 で酸化してえたレチネン$_1$ と一致している。収量，蛙卵 1 g 当り 1.6〜2.0 μg. 上記と同様にしてえたニシン (herring) 卵レチネンは，ヘキサン溶液で 385〜390 mμ に，クロロホルム溶液では 405 mμ に吸収極大がある。さらにこの物質の $LiAlH_4$ 還元生成物の諸性質はビタミン A_2 とよく一致しており，ニシン卵レチネンはレチネン$_2$ であると考えられる。このニシン卵中にはビタミン A_2 も含まれていた。本実験に使用したニシンは市場で購入したものであるが，かなり淡水が流入している chesapeake 湾で漁獲されたものと推定される。タラの類である ling と whiting の卵の混合物中にはレチネン$_1$ が見出されたが，ニシンの一種 shod の卵にはレチネン$_1$，レチネン$_2$ のいずれも検出されなかつた。(岡市)

アンモニア態窒素と蛋白窒素の微量定量法 G. FELS and R. VEATCH: *Anal. Chem.*, **31** (3), 451〜452 (1959). 蛋白窒素をアンモニア態窒素として 1γ までの微量をニンヒドリン発色により比色定量を行つている。本法はクエン酸緩衝液を pH に対する色調の安定化のため，また中性塩類の影響を少なくするため使用している。定量法は窒素の 50〜150γ を含む蛋白溶液 1 ml をケールダール分解瓶に入れ，50% 硫酸液 1 ml，30% 過酸化水素水および分解促進液数滴加えて3時間分解し，冷却後 1N 苛性ソーダ液で中和して一定量に稀釈する。この分解液 1 ml とニンヒドリン試薬 (ニンヒドリン＋塩化第一スズ，クエン酸緩衝液で pH 5 に調製) 2 ml を試験管に入れ，沸騰水中に 20 分入れ，15〜20°C の水中で放冷後プロパノール水を加えて液の一部を 105×18 mm セルに移し，570 mμ における吸光度を測定する。一方硫酸アンモニウムを標準物質として上記方法により濃度と吸光度の標準検量線を作成しておき，これを基として定量を行う。実例としてアラニン，フェニールアラニン，牛血清アルブミンおよびリゾチーム中の窒素量を測定し，96〜104% の回収率をえている。この方法の特徴はニンヒドリン発色にクエン酸緩衝液を使用しているため反応色が安定であり，従来のケールダール法よりは精度の点でおちるが感度は良好であり，労力を要しない。さらに MOORE らの方法によるクエン酸濃度の 0.1 M よりは 0.5 M の方が発色による感度は良好であり，また中性塩類による色調の影響も 0.5 M の方が少ない。(平野(敏))

変色した加熱処理マグロの肉色素 W. DUANE BROWN, A. L. TAPPEL and H. S. OLCOTT: *Food Research*, **23**, 262〜268 (1958). 一般に加熱処理したマグロの肉の色調は桃色を呈しているが，時々黄褐色あるいは黄褐色から緑色がかつた色調を呈することがあり，これを "green tuna" とよんでいる。普通のマグロ肉の桃色の色素は筋肉色素 hematin であるから，したがつてこの変色した "green tuna" の色素は hematin の変化したものであろう。この "green tuna" の色素について光学的検討を加えた。"green tuna" の反射率を直接ベックマン分光々度計で測定すると大体 540 mμ と 410〜415 mμ に反射の極小があり，これは正常な加熱処理マグロを空気中で完全に酸化したものの反射曲線と一致しまた "green tuna" の表面を hydrosulfite で還元した場合の反射曲線は正常な加熱処理マグロや一度空気中で完全に酸化し，さらに hydrosulfite で還元したマグロの反射曲線と一致した。また "green tuna" の反射曲線は約 415 mμ に heme 化合物の porphyrin 環の存在を示す Soret の吸収帯を現わした。以上のことから "green tuna" の色調は筋肉色素 hemochrome の酸化した hemichrome に関係があることがわかつた。また加熱処理後のマグロの肉の色調と，捕獲後のマグロの処理の方法との間の関係について検討したが一定の関係が存在することを認めることはできなかつた。(小泉)

海産硬骨魚の視感性，視紅濃度および網膜組織に対するビタミン A 補給および欠乏の影響 ELIZABETH, M. KAMPA: *Bull. Scripps Inst. Oceanography* **6** (6), 199〜224 (1953). 餌料より来くビタミンAと視感性との関係については多くの研究があるが魚類に関するものは少ない。著者は顫光に対する魚の反応を測定する装置を工夫し，この装

置により *Gillichthys mirabilis* および *Lepomis macrochirus* の視感性を研究するとともに網膜中における視紅濃度および網膜組織の状態を調べた。魚を (1) 対照群, (2) ビタミンA補給群, (3) ビタミンA欠乏群の3群に分けて飼育し，その各々につき上記の試験を行なつた結果，対照群とビタミンA補給群との間には大差なく，ビタミンAの添加はやや視感性の増大，視紅濃度の増加をおこしたに過ぎず，組織学的にもこの2群の間の差異はみとめられなかつた。これに反しビタミンAの欠乏は視感性をいちじるしく減少さすとともに，網膜重量，視紅濃度をも減少させる。眼の組織も前2群とは異なり暗調応における光感受機能のいちじるしい不完全さを示す状態にあり，桿体および錘体外節の容積が縮少していた。さらに以上の結果が従来の動物の光感性の理論における仮説のいくつかをよく裏付けるものであることを考察した。(衣巻)

分光反射測定によるキハダマグロ肉色の特性と変色現象に関する研究 J. J. NAUGHTON, H. ZEITLN and M. M. FRODYMA: *J. Agr. Food Chem.*, **6** (12), 933～938 (1958). 著者は 400～700 mμ の波長の反射を測定することにより，蒸煮または凍結にするマグロ肉の色調変化を調べた。燐酸緩衝液に対する溶解性についての結果では，キハダマグロのヘム色素の大部分はヘモグロビンであることを示した。鮮肉の色はオキシヘモグロビンとメトヘモグロビンの割合によつて相違するが，この肉を蒸煮するとメトヘモグロビンの割合が多い鮮肉はオレンジ色または緑色になる傾向がある。この場合，還元型ヘモグロビンは変性グロビン・ヘモクロームになり，メトヘモグロビンは変性グロビン・ヘミクロームになる。酸性アセトンまたは酸性メタノールで抽出処理を行なつた蒸煮緑変肉は 625 mμ または 610 mμ に吸収の山を示すが，緑変の度合が低い肉ではこの吸収の山は不明瞭である。一方マグロ肉を凍結貯蔵すると短期に褪色したが，その主な原因はオキシヘモグロビンからメトヘモグロビンへの変化によるものと推定される。また苦悶死のマグロ肉のメトヘモグロビン量は即殺肉に比べ殆んど差がなかつた。さらに抽出脂質での過酸化物価の高いマグロ肉は蒸煮後緑変肉または他の変色を示す傾向が認められた。(尾藤)

細菌酵素によるトリメチルアミンおよび硫化水素生成に対する数種抗生物質の作用 C. H. CASTELL and M. F. GREENOUGH: *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **14** (5), 771～774 (1957). トリメチルアミンオキサイド還元力の強い *Serratia marcescens* と未同定グラム陰性桿菌のトリメチルアミンオキサイドからトリメチルアミンへの還元に対してクロルテトラサイクリン，オキシテトラサイクリン，ポリマイクリンおよびナイシンは，それぞれ最高濃度 50 p.p.m. においても阻止作用を示さなかつた。また *Escherichia coli* によるシステインから硫化水素への還元に対してもクロルテトラサイクリン，オキシテトラサイクリンは 50 p.p.m. において阻止作用がなかつた。一方カナダにおいて鮮魚の防腐剤として用いられている亜硝酸塩は細菌酵素のトリメチルアミンオキサイド還元作用を阻止する。したがつて亜硝酸塩で処理した鮮魚の鮮度判定法としてトリメチルアミンは不適当であるが，以上の抗生物質によつて防腐処理した鮮魚の鮮度測定としてはトリメチルアミンが採用しうる。(尾藤)

γ 線照射と加熱併用による缶詰の殺菌 L. L. KEMPE, J. T. GRAIKOSKI and P. F. BONVENTRE: *Applied Microbiol.*, **7** (3), 131～134 (1959).
現在一般の缶詰製造において採用されている加熱殺菌は食品の官能的な性質を悪変させたり，栄養的な損失をまねいたりするので，つねに新しい殺菌方法が考えられてきた。耐熱性の極めて強い PA 3679 芽胞を接種した牛挽肉缶詰を用いて γ 線による照射と加熱併用による殺菌効果を研究した。その結果によると，照射量を増すにしたがい殺菌に必要な加熱は少くなることが判明した。また肉中の芽胞濃度が高くなると処理を強くする必要がある。例えば缶当り 10,000 の芽胞を接種した場合には，F_0 (250°F に加熱された時間（分））を 1.5 にするには照射量を 1.8 megarep にする必要があるが，300 の芽胞の場合には 1.3 megarep の照射で充分である。無照射の肉を殺菌する場合の F_0 値は，芽胞数 10,000 のとき 7，300 のとき 6 を要する。すなわち 1.3～1.8 megarep の γ 線照射により加熱処理のみの場合に比較して F_0 値を 1/4 に減少させることができる。PA 3679 芽胞は耐熱性が極めて強い故に，先に報告したボツリヌス芽胞に比較すると相当にきびしい処理が必要であつた。(横関)

細菌芽胞の耐熱性を減少させる物質の検索 M. D. MICHENER, P. A. THOMPSON, and J. C. LEWIS: *Applied Microbiol.*, **7** (3), 166～173 (1959).
Clostridium PA 3679 芽胞を種々の薬品の入つた培地中で 113°C 14 分加熱し，残存芽胞数からそれら薬品の殺菌効果を検索した。約 650 種の薬品をテストした結果，このうち 588 はほとんど効果は認められなかつたが，35 の薬品が 20～45% 殺菌時間を減少させ，26 の薬品が 45% 以上殺菌時間を短縮させた。活性物質の割合は高等生物の突然変異誘起物質および硫黄化合物が最も高かつた。効果の強い物質は subtilin およびそのメチルエステル，nisin, ethylene oxide, diepoxybutane, 過酸化水素，ホルムアルデヒド, dodecylguanidine·HBr, cetyltrimethylammonium bromide, nordihydroguaiaretic acid, ビタミン K_4, tetrachlorohydroquinone などであつた。(横関)

雑　　録

○ 7 月 理 事 会

1. **開催日**　昭和 34 年7月 27 日
2. **場　所**　東京水産大学会議室
2. **出席者**　田内会長，外 14 名
4. **議　事**

a．農学運営委員会報告

来年度農学大会におけるシンポジウムのテーマについて検討が行われた。日本水産学会としては，運営委員会で決定したテーマに対し，適当な講演者を挙げて協力することをきめ，その旨を委員会に通知したが，7月 31 日の会合において，「稲作問題」にしぼられたとの連絡があつた。

b．毎日学術奨励金応募論文の件

表記に関しては，冨山一郎・阿部宗明両氏の「南極洋の魚類の研究」を推薦することに決定した。

c．入会承認　個人 5 名

会　　告

1．第 25 巻第 3 号の会告欄に掲載しました数理資源学関係標準術語および記号 A Standard Terminology and Notation for Fishery Dynamics は，J. Du Conscil, 24 巻 2 号 239 頁に掲載されたものであることをおことわりいたします。

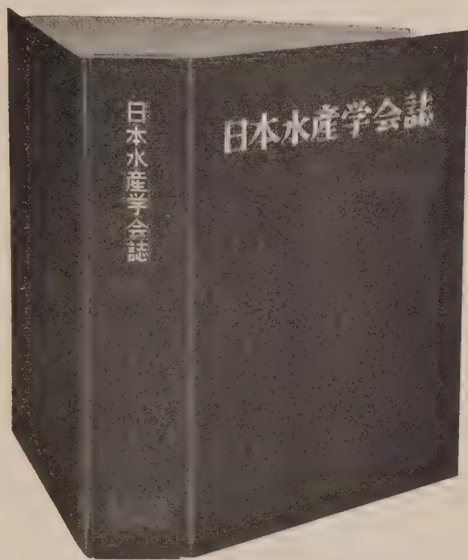
2．学術会議有権者名薄（農学関係）が学会事務局に備え付けてありますから御利用下さい。

正　誤　表

Vol. 24, No. 12

頁	誤	正
978 下から 9 行目	$\left(N=\frac{1}{2}\Sigma_i/Z_i/V_i\right)$	$\left(N=\frac{1}{2}\Sigma_i/Z_i\right)$
984 上から 8 行目	$\mu=0.1N$	$\mu=0.1\times\frac{1}{N}$
〃 上から 11 行目	〃	〃
985 要約 iii) の式	〃	〃

会誌 論文集 合本用ファイル (B 5 判) 実費頒布御通知



水産学会誌 1 年分を簡単に製本出来る。

冊誌を傷めず保存できる。

穴をあけず，糊も使わず合本出来る。

中の何れでも取外しが簡易。

頒価	厚さ 4.5 cm	¥ 120
	〃 6.0 cm	¥ 130
		〒 ¥ **20**

御希望の向は代金を添え日本水産学会事務局へ御申越下さい。

〇学会所定原稿用紙価格 送料共　金 100 円

昭和三十四年八月二十日 印刷
昭和三十四年八月二十五日 発行

第二十五巻 第四号

本号定価 140 円 (送料別)

編集兼発行者　久保伊津男
東京都港区芝海岸通り 6 丁目　東京水産大学内

発行所　日本水産学会
東京都港区芝海岸通り 6 丁目　東京水産大学内
振替口座　東京 59529 番
電話 (45) 2200 番

印刷者　笠井康頼

印刷所　株式会社 国際文献印刷社

発売所　株式会社 国際文献印刷社
東京都新宿区山吹町 1 8 4
電話 (34) 7 4 4 6

沖合水域におけるサケ・マス魚群の分布密度推定に関する一考察

田 口 喜 三 郎

(1959 年 6 月 1 日受理)

STUDIES ON THE ESTIMATE OF THE DISTRIBUTION DENSITY OF SALMON POPULATION ON THE HIGH SEAS.

Kisaburo TAGUCHI*

In order to estimate the distribution density of salmon on the high seas, the number of tangled fish per one shackle of gill-net in one trial of test fishing by one vessel is used as an index showing the density of the salmon distribution.

But the fishes tangled to the net are not necessarily distribute equally in all parts of the nets, and also it is unknown that whether or not the fish distribute equally around the test fishing area.

Then the distribution of the number of fish tangled to each one shackle of one set of gill-net and the distribution of the number of fish caught by several vessels in certain limited area in the same time were studied.

The results obtained from this experiment are as follows:

1. In a test fishing, at least 100 shackles (unit - "Tan" with a length about 50 meters) of gill nets must be used.
2. The probability to estimate the distribution density of salmon by the average number of tangled fish per one shackle of gill-net in one trial by one vessel is in low level.

Table 1 shows that the number of fish tangled to each one shackle of one set of gill-net forms a Poisson distribution.

Table 2 shows that in a round area with a radius of about 40 miles salmon population distribute in a form of Poisson too.

I. 前 言

沖合水域におけるサケ・マスの分布濃度をしるために，材料・目合・仕立等を一定にした一連の流網を用い，一般商業船と同様の操業方法で試験漁獲を行い，この時の流網1反平均の罹網尾数を，その水域のその時の魚群密度を示す指数として利用することが行われている。

しかしサケ・マスの分布状況は，一連の流網の設置される水域内でも均一とは限らないから，流網1反平均の罹網尾数を魚群密度を示す指数とするためには，流網1反毎の罹網尾数の分布型を明らかにし，一定の信頼度でしかも余り大きな巾をもたない範囲内でこの魚群密度を推定しうるだけの網反数を使用する必要がある。また1回の試験漁獲で得た結果を，ある水域の魚群密度を示す指数として用いる場合，これがどの程度の確率をもつものであるかを検討しておく必要がある。

本文は以上の考えから，初めに一連の流網に罹網する魚の1反毎の罹網尾数について分布型を調べ，魚群密度を推定するに必要とする網反数とこの推定値の巾を示し，つぎに直径 40 浬程度の円内たる水域で同時に多数の船が操業した場合の1隻毎の漁獲量の分布型を調べ，1回の試験漁獲の結果がこの水域での魚群密度をどの程度の確率で現わすかを示すこととした。

* 日魯漁業株式会社 (Nichiro Fish. Co. Ltd.)

II. 1反毎の罹網尾数についての観察

一連の流網における網1反毎の罹網尾数の分布を調べるため，母船式サケ・マス漁場で操業した漁船で，つぎの観測を行つた。

観測年月日： 1955 年 6 月 22 日，観測位置： 48°30′N・166°33′E，観測船名：母船協宝丸（日魯漁業）附属調査船第3千鳥丸，観測した網反数： 86 反。

Table 1. Frequency distributions of number of fish tangled in each one shackle of gill-net.

x	Red		Chum		Pink	
	$f(x)$	$F(x)$	$f(x)$	$F(x)$	$f(x)$	$F(x)$
0	41	37.6	3	1.34	2	0.001
1	28	31.0	6	5.58	0	0.016
2	10	12.8	18	11.60	1	0.086
3	5	3.5	11	16.1	1	0.32
4	2	0.7	14	16.7	2	0.86
5			11	13.9	2	1.92
6			9	9.65	5	3.52
7			6	5.74	8	5.55
8			2	2.99	4	7.62
9			2	1.38	7	9.33
10			2	0.57	10	10.25
11			2	0.21	10	10.25
12					6	9.43
13					10	7.95
14					3	6.25
15					3	4.58
16					0	3.14
17					2	2.04
18					5	1.25
19					0	0.71
20					2	0.39
21					0	0.21
22					1	0.04
23					0	0.02
24					0	0.001
25					0	0.0005
26					0	
27					0	
28					1	
29					1	
Total	86		86		86	
Mean	0.825		4.163		11.0	
$P(x)$	$\frac{e^{-0.825}\times 0.825^x}{x!}$		$\frac{e^{-4.163}\times 4.163^x}{x!}$		$\frac{e^{-11.0}\times 11.0^x}{x!}$	
$P\{\chi^2 \geqq \chi_0^2\}$	0.75		0.30		0.20	
m	+0.221		+0.462		+0.708	
$\underline{m}$	−0.173		−0.414		−0.662	

$m \cdot \underline{m}$····Distances of fiducal limits for population means of Poisson distributions from sample means in confidence coefficient 0.95.

x····Number of fish tangled in each one shackle of gill-net.

$f(x)$····Frequency distribution observed.

$F(x)$····Frequency distribution calculated.

$P\{\chi^2 \geqq \chi_0^2\}$: Probability in χ^2 test.

以上の観測による1反毎の罹網尾数の魚種別分布は Table 1 $f(x)$ に示す通りである。

流網に魚が罹る状況は明確ではないが，魚がある形で分布している水域に流網が投入された場合，各1反の網にはその網のそばにいた魚 Ni が，網1反の漁獲率 f で罹網し，1反の網の罹網尾数は Ni f となると考えられる。この場合，流網1反の長さが 50m あることを考えれば Ni と Ni+1 あるいは Ni+2 とは関連はないと推察され，また各1反の網の漁獲率 f は一定とみることができるから，Table 1 の $f(x)$ は，ある一定の平均値 N で分布している魚群を，一定の漁獲率 f で互に独立に漁獲した場合の標本分布とみることができる。したがつてこの表から，ある魚群密度指数 fN に対する標本平均が 0.825，0.416，11.0 を示す3つの場合について，それぞれ分布型が観察されたものとして，これらの分布型およびこれから推定される魚群密度について考察を加えることとした。

この場合前記罹網状況についての考え方および Table 1 の分布型から明らかなように，これらはいずれもポアソン分布に近い分布を示すと推定されることである。そこでこの考察としてはポアソン分布型の適用の可否およびこれが可能な場合にはその分布函数と信頼系数 0.95 で推定される魚群密度指数の信頼限界について計算を行うこととした。

(1) 標本平均が 0.825 の場合

Table 1 のベニサケでえられた分布から，標本平均が 0.825 の場合の分布型をみると，これがポアソン分布を示すとすれば $P(x)=\frac{e^{-0.825}\times 0.825^x}{x!}$ が成立する。

これから理論的分布を算出し (Table 1 $F(x)$ 欄)，χ^2 検定を行えば $P\{\chi^2 \geqq \chi_0^2\}=0.742$ となる。これはかなり実際の観測値と一致しているから，分布型は標本の1反平均罹網尾数を函数とするポアソン分布を示すと判断することができる。つぎにこの分布を示す母集団からの任意標本数を 86，標本平均を 0.825 とし信頼系数 0.95 で信頼限界の母平均からの距離をポアソン分布表から計算すると，上限 (m) は +0.221，下限 (m) は −0.173 となり，標本平均 0.825 に対し上限は 27%，増下限は 21% 減，合計 48% もの広い巾をもつことが推定される。

(2) 標本平均が 4.163 の場合

Table 1 のシロサケでえられた観測値から標本平均が 4.163 の場合の分布型をみると，ポアソン分布 $P(x)=\frac{e^{-4.163}\times 4.163^x}{x!}$ が適合するように推定される。(1) の場合と同様にこれから理論的分布を算出し，χ^2 検定を行うと $P\{\chi^2 \geqq \chi_0^2\}=0.30$ となり，この場合も分布型は標本平均を函数とするポアソン分布を示すと判断できる。また標本数を 86，標本平均を 4.163，信頼系数 0.95 でポアソン分布の母平均の信頼限界を計算すると，上限は +0.462 (標本平均に対し 11.1%)，下限は −0.414 (標本平均に対し 9.95%) となり，信頼限界は 0.876 (21.05%) の巾をもつことが推定される。

(3) 標本平均が 11.0 の場合

Table 1 のマスでえられた観測値から標本平均が 11.0 の場合の分布型をみると，(1)，(2) の場合と同様 $P(x)=\frac{e^{-11.0}\times 11.0^x}{x!}$ のポアソン分布が適合するように推定される。理論的分布を算出し，χ^2 検定を行うと，$P\{\chi^2 \geqq \chi_0^2\}=0.20$ をうるからこれも前記分布型が適用されるものと判断できる。そこで信頼系数 0.95 で母平均の信頼限界を調べると上限は +0.708，下限は −0.662 を得，この上下の巾は 1.37 で標本平均に対し 12.4% である。

(4) 考　察

以上3つの場合をみると，一連の流網の操業水域内でも，魚群の分布は均一ではなく，この分布状況を網1反毎の罹網尾数でみると，一連の網に罹つた魚の1反平均罹網尾数 (m) を分布函数とするポアソン分布 $P(x)=\frac{e^{-m}m^x}{x!}$ を示すことが明らかとなる。x は各1反の罹網尾数による階級を現わし，$P(x)$ はその階級における出現率を現わす。

ここでの観察は 86 反の網について行つたため，観察された分布と理論的分布との適合度合が，平均罹網尾数の増加にしたがつて低下しているが，これは1反平均罹網尾数の増加にしたがつて，1反毎の罹網尾数の分布範囲が広くなるため，分布型を適確に把握するに充分なだけの観測値がえられていないことに原因がある。したがつてここで推定したポアソン分布をするという基本的性質は，これだけの理由では変らないと判断される。

この判断にたつと，流網1反平均の罹網尾数を魚群密度を示す指数とするためには，観測した網反数を標本数とし，観測した1反平均罹網尾数を標本平均とし，これからポアソン分布における母平均を一定の信頼度で推定する必要がある。しかしてこの推定値が魚群密度指数となる。

ここでは信頼度を 0.95 として母平均の信頼限界を示しているが，Table 1 に示したように，信頼限界の標本平均からの巾は，これを標本平均に対する比でみると標本平均が小さい程大きくなつている。このため魚群密度指数をいくつか比較して魚群の濃度を判断しようとする場合，これらの標本平均がいずれも小さい場合には信頼限界の巾が大きくて比較が困難となる。しかし推定値である以上ある程度の巾をもつことはさけられないから，信頼限界の巾をせまくするには如何にしたならよいかが問題となる。そこで標本数としての網反数を増加させた場合，母平均信頼限界の巾と標本平均との比が如何に変化するかをポアソン分布における母平均の信頼限界を示した表から計算すると Fig. 1 のようになる。

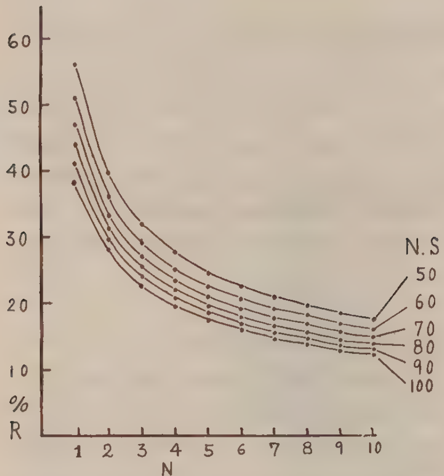


Fig. 1. Relation between the average number of tangled fish per one shackle of gill-net and the ratio of the width of fiducal limit for population mean for the size of sample mean.

N: Average number of tangled fish per one shackle of gill-net.

N.S: Number of shackle of gill-net used for test fishing.

R: Ratio of the width of fiducal limit for population mean for the size of sample mean.

The Length of one shackle of gill-net is about 50 meters.

ここでは横軸に1反平均の罹網尾数をとり，縦軸には母平均信頼限界の巾と標本平均との比をとつているが，これをみると1反平均罹網尾数が5尾以上では，使用する網反数は 50 反でも 100 反でも母平均は標本平均から 10～20% の変動範囲内に入ることになり，他と比較する場合大きな誤りを侵すことはないと思われるが，1反平均罹網尾数が2尾以下になると，100 反の網を使用しても変動の巾は 30% 以上となり，50 反の網では 40% 以上となる。したがつて魚群密度の未知な水域でこれを推定する場合を考えると，少なくとも 100反程度の網を使用することが必要と判断され，さらにこの場合の使用反数と標本平均とから信頼限界をも計算しておかなければ他との比較は適切を欠くと判断される。

ここでは魚群密度を推定する場合についての考察をのべたが，このことは網の目合・網糸の材料・その他網の性質の異つたものと漁獲性能を比較するような場合にも適用できることであつて，魚体の大きさの変化等による漁獲能力の変化等は別として，単に罹網尾数の多少を論ずるためには，この面からの考慮が必要と判断される。

III. 半径 40 浬の円内における漁獲の分布

流網1反平均の罹網尾数を魚群密度指数とすることについての考察は上にのべたとうりであるが，1隻の船が1回の操業によつてえた1反平均罹網尾数を基礎にその水域を含む附近の海域の魚群密度を推定する場合，この推定がどの程度の確率をもつているかを明確にしておく必要がある。

これにはその海域内で何隻かの船が互に独立して同時に漁獲を行つた場合，これら個々の漁船の1反平均罹網尾数が，如何なる分布型を示すかを明らかにしておかなければない。

この場合問題となることはその水域の広さであつて，水域が狭ければ個々の漁船の1反平均罹網尾数の分散は小さく，水域が広くなればこの分散は大となるだろう。また分散は同じでも魚群の大きさと水域の広さとは相関があるだろうということである。

したがつてこの目的のためには，一定の広さの水域における魚群の密度とこの分散との関係を明らかにするだけでなく，分散を一定とした場合の魚群密度と水域の広さとの関係をも明らかにすることが必要となる。しかして前者は1回の試験結果がこの水域の魚群密度を示す確率と魚群密度との関係を明らかにすることを意味し，後者は1回の試験結果が魚群密度を一定の確率で示す水域の広さを明らかにすることを意味している。

しかし前者については母船式漁業の操業記録がこのための好資料となつているので観察が可能であるが，後者については実際上これを観測することは不可能である。そこでここでは母船を中心として出漁する漁船の操業可能な範囲（半径 40 浬の円をなす海域）を一定の広さの水域とし，個々の漁船の漁獲の分布状況から，この水域の魚群の分散状況と魚群密度との関係を調べ，1隻1回の試験操業でこの密度を推定する場合の確率を示すこととした。

すなわち，1母船に附属する何隻かの漁船が，母船を中心とする一定広さの海面で同時に1回操業した場合，各漁船間の漁獲は必ずしも互に独立とはいえないかもしれないが，これを独立したものとすると，各船

Table 2. Frequency table of catches in each distribution densities.

X \ Y	x	0～99 f(x)	0～99 F(x)	100～199 f(x)	100～199 F(x)	200～299 f(x)	200～299 F(x)	300～399 f(x)	300～399 F(x)	400～499 f(x)	400～499 F(x)	500～599 f(x)	500～599 F(x)	600～699 f(x)	600～699 F(x)	700～799 f(x)	700～799 F(x)	300～899 f(x)	300～899 F(x)	900～999 f(x)	900～999 F(x)	1000～1099 f(x)	1000～1099 F(x)
0～ 99	0	55	55	39	42	4	15.9	1	6.8		3.8		1.6		0.2								
100～ 199	1	14	14	47	43.5	44	34.5	16	22.1	10	15.4	3	7.9		1.7	1	1.1			1	0.1		
200～ 299	2	2		27	23.5	53	37.8	49	35.4	28	31.0	20	19.8	5	5.3	1	4.4	2	2.2	0			
300～ 399	3			6	8.2	19	27.3	39	37.8	58	41.5	28	33.8	17	10.6	5	10.8	8	6.0	2	1.3	5	0.75
400～ 499	4			1	2.2	11	14.9	32	30.3	46	41.7	45	40.2	14	16.1	21	19.5	13	11.9	3	2.9	1	1.49
500～ 599	5			1	0.5	3	6.4	20	19.2	36	33.4	51	39.9	15	19.4	27	27.9	22	19.0	5	5.2	6	3.08
600～ 699	6					3	2.2	9	10.2	20	22.2	38	32.8	21	19.4	33	33.4	24	25.2	9	8.1	4	5.3
700～ 799	7					3	0.7	2	4.6	7	12.6	18	23.0	16	16.7	54	34.0	23	28.6	8	10.5	6	7.8
800～ 899	8							1	1.9	5	6.4	6	14.1	13	12.6	31	30.3	27	28.4	14	12.0	6	10.0
900～ 999	9							1	0.7	2	2.8	8	7.7	12	8.4	27	24.2	30	25.2	12	12.2	13	11.5
1000～1099	10											4	3.6	4	5.0	13	17.2	18	20.0	12	11.2	10	11.8
1100～1199	11											4	1.6	1	2.7	7	11.3	12	14.5	8	9.3	7	11.0
1200～1299	12									1		1	0.7	3	1.3	3	6.7	11	9.6	6	7.1	9	9.5
1300～1399	13											1	0.2			2	3.7	4	5.9	6	5.0	9	7.5
1400～1499	14															2	1.8	3	3.4	4	3.3	9	5.5
1500～1599	15									1						3	0.9	5	1.8	1	2.0	1	3.8
1600～1699	16																			1	1.1	4	2.4
1700～1799	17																			1	0.6	1	1.5
1800～1899	18																						0.8
1900～1999	19																					2	0.4
2000～2099	20																	2	0.22			1	0.2
2100～2199	21																						
2200～2299	22																					1	0.04
Total		71		121		140		170		214		227		121		230		204		93		95	
$\bar{x}$		0.254		1.058		2.178		3.2		4.009		4.926		6.024		7.156		7.96		9.15		10.32	
P		0.99		0.85		0.05		0.20		0.40		0.10		0.60		0.03		0.95		0.95		0.10	

X: Class of catch in each catcher boat which used 300 "Tan" of gill-nets in one trial.
Y: Class of distribution density which is shown by the mean catch per boat.
x: Variable of catches.
$f(x)$: Observed class frequency.
$F(x)$: Estimated class frequency.
P. $P(\chi^2 \geqq \chi_0^2)$

の1反平均罹網尾数の分布は，その水域での魚群の分散状況を現わすものと考えられる。またこの同時操業を何回か行うなら，これは魚群密度の違う場合の分散状況を何回か調べることになるから，この結果は魚群密度の変化に対する魚群分散状況の変化を示すと考えられる。以上のような考えからつぎの資料を用い上記目的に沿うよう検討を行つた。

(1) 資 料

資料は 1956 年に北太平洋水域に出漁した日魯漁業のサケ・マス母船協宝丸の操業記録からとつたもので同船に附属して出漁した漁船 25 隻の 5 月 9 日から 7 月 31 日までの間の時化による休業および操業が適切でない場合を除く 69 回の操業時の各船毎回の漁獲量である。なお漁獲は検討を容易にするためベニサケのみのものを用いている。またこの場合一定の広さの水域としては，母船を中心として漁船の操業可能な範囲である半径 40 浬の円となるが，この広さは大体 5000 平方浬であり，漁船1隻当りの広さは 200 平方浬である。これに対し漁船1隻の使用する流網の長さは網 300 反約7浬であるから，25 隻の漁船がこの水域に分散して操業すれば，これら漁船の操業は互に影響しあうことは少ないと推定される。したがつてこれらの操業結果は大体独立したものとして差支えないと考えた。

(2) 検 討 方 法

以上の水域内での魚群の分散状況を調べるに当つて，これが如何なる分布型を示すかを見定めるためにはある程度大量の観測値が必要であり，25 隻の漁船の1回の操業結果だけでは不充分である。このため魚群密度が同じような場合の操業結果を何回分か集め，これを1回の試験結果としてみることが充分な観測値をうる上に必要と考えた。

そこで魚群密度としては毎回の操業時の 25 隻全船の1隻平均漁獲をとり，これを 100 尾間隔の階級に区分し1つの階級内では魚群密度は同じであるとした。つぎにこれら各階級内の魚群分布をみるために，個々の漁船の漁獲量も 100 尾間隔の階級に分け，この階級に対する出現度数によつて分布をみることとした。

Table 2 は母船協宝丸附属漁船 25 隻の 69 回にわたる操業結果を上記の方法によつて整理したものである。この表では上の横欄は1母船の操業水域内における魚群密度を現わし，縦の欄はそれぞれの密度における個々の漁船の漁獲量の分布を現わしている。

Table 3. Probability distributions of catches in each distribution densities.

X	x \ $\bar{x}$	0.254	1.058	2.178	3.2	4.009	4.926	6.024	7.156	7.96	9.15	10.32
0～99	0	.775	.346	.113	.040	.018	.007	.002				
100～199	1	.197	.367	.246	.130	.072	.035	.014	.005	.002	.001	
200～299	2	.025	.194	.268	.208	.145	.087	.044	.019	.011	.004	.002
300～399	3		.068	.195	.222	.194	.144	.088	.047	.029	.013	.006
400～499	4		.018	.106	.178	.195	.177	.133	.085	.058	.031	.016
500～599	5		.004	.046	.113	.156	.175	.160	.121	.092	.057	.032
600～699	6			.016	.060	.104	.144	.160	.145	.123	.086	.056
700～799	7			.005	.027	.059	.101	.138	.148	.140	.113	.082
800～899	8				.011	.030	.062	.104	.133	.139	.129	.106
900～999	9				.004	.013	.034	.069	.105	.123	.131	.121
1000～1099	10					.005	.016	.041	.075	.098	.120	.125
1100～1199	11					.001	.007	.022	.049	.071	.100	.117
1200～1299	12						.003	.011	.029	.047	.076	.100
1300～1399	13						.001	.005	.016	.029	.054	.079
1400～1499	14							.002	.008	.016	.035	.058
1500～1599	15								.004	.008	.021	.040
1600～1699	16									.004	.012	.025
1700～1799	17									.002	.006	.016
1800～1899	18									.001	.003	.009
1900～1999	19										.002	.005
2000～2099	20										.001	.003
2100～2199	21											.001
2200～2299	22											

$X \cdot x \cdot \bar{x}$: The same as in table 2.

この表の縦欄の分布型を調べるなら，魚群密度と分布型との関係が明らかにされ，これから1隻の船が1回の操業によつてその水域の魚群密度を推定する確率をしることができる。

なお漁船は1回の操業に大体300反の流網を使用したから，この表を流網1反の罹網尾数に換算すると，魚群密度および分布に用いた階級の巾は 0.33 尾となる。

(3) 検討結果

Table 2 に示した縦欄の分布をみると，いずれもポアソン分布型に近い分布をすると推定される。そこでそれぞれ標本平均（ここでは変数 x の平均）を分布函数とするポアソン分布型を当はめ，これがどの程度実際の分布に合致しているかについて χ^2 検定を行うと，$P(\chi^2 \geqq \chi_0^2)$ は Table 2 の P に示すようになり，いずれの密度の場合にも大体適合しているが，その程度は 0.03 から 0.95 まで不規則に変化している。しかしこの理由は漁船の操業が実際は互に独立でない場合があること・各船の使用する流網の長さは300反を平均として前後に 10% 程度増減があつたこと・魚群密度および分布をみるため100尾間隔の階級に分けたこと・分布をみるための階級数に対し観測数の少ないこと等にあると考えられるから，この点を考慮すれば，ポアソン分布を示すとみて差支えないと判断される。そこで理論的確率分布をみると（Table 3)，1隻の船が1回の試験操業でえた魚群密度指数（1反平均罹網尾数）が，その水域の魚群密度を示す確率は，魚群密度が薄い程高く，その関係は Fig. 2 に示す曲線となることが推定される。しかしいずれにしても1隻1回の試験では確率が低く，これをもつてその水域の魚群密度推定することは困難であることが明らかとなる。ただここでは母船を中心とする漁船の操業可能な水域について考察を加えているので，これ以下の狭い水域については触れることはできない。

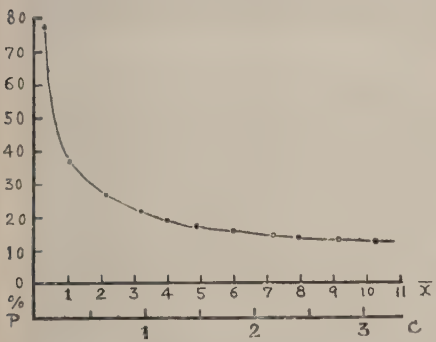


Fig. 2. Probability curve to estimate the distribution density by the average number of fish per one shackle of gill-net in one boat one trial.
P: Probability in percent, x: Variable of catches, C: Average number of fish per one shackle of gill-net in one boat one trial.

IV. 結　　語

流網1反毎の罹網尾数はポアソン分布をする。したがつて1反平均罹網尾数をもつて魚群密度を現わす指数とするためには100反程度の網を使用する必要がある。この1反平均罹網尾数は，別の面からみるとこの網の漁獲性能を現わすことになるから，異る性質の網と漁獲性能を比較するような場合にこのことは注意点を示したことになる。

1母船を中心として操業する各漁船の漁獲量もポアソン分布をする。したがつて1隻1回の試験漁獲によつて魚群密度を推定しようと試みることは困難であり，不可能といつても差支えないと判断される。

このことはいくつかの異る地点での1隻1回の試験結果を比較して，魚群分布密度の多少を判断することが，たとえこれが同時期に行われたものであつても，危険の多いものであることを示している。

ON THE ARRANGEMENT OF ARAGONITE CRYSTALS IN THE INNER LAYER OF THE NACRE*

Kōji WADA**

(Received June 2, 1959)

It was reported in the preceding paper[1] that the nacreous layer of the pearl oyster, *Pinctada martensii*, was composed of the mosaic structure of minute aragonite crystals which arranged their orthorhombic *b* axes parallel or nearly parallel to the horizontal growth direction of the shell. But the crystal arrangement differed from portion to portion of the nacre, and among individual shells. In this case, special attention has been paid to the relation between the shell development and the arrangement of the crystalographic axis, and to the spiral growth of aragonite crystals on the nacreous surface.

In this paper, the relationship among the horizontal growth of the shell, the arrangement and the growth pattern of small aragonite crystals on the inner shell surface was investigated for the several pearl oysters of the genus *Pinctada* with X-ray diffraction and polarizing microscope.

Materials and Methods

The species of pearl oyster used in this work were consisted of *Pinctada martensii*, *P. margaritifera* and *P. maxima*, which were obtained from the areas of Ago Bay, Kagoshima Bay and Arafra Sea, respectively.

At first, celluloid replicas were prepared according to the SUZUKI's method. The surface structure of shells was able to observe readily under a usual light microscope with the help of this method. Next, the pieces, those sizes being about 10×5 mm, removed from the different parts of the nacre were polished up to thin sections horizontal to the inner shell surface, and then the fibrous arrangement of the crystals was examined for such preparations by the rotating crystals method of X-ray analysis, or under the conoscope.

Observations

In the nacres of the genus *Pinctada*, the calcium carbonate crystals are in the form of aragonite, and are fibrously arranged along the horizontal growth of the layer, as seen in Fig. 1. These X-ray diffraction patterns are given by rotating round the axes parallel to and at right angle to the horizontal growth direction of the shells,

* Contribution No. 44 from National Pearl Res. Lab.
** National Pearl Res. Lab. (和田浩爾, 国立真珠研究所)

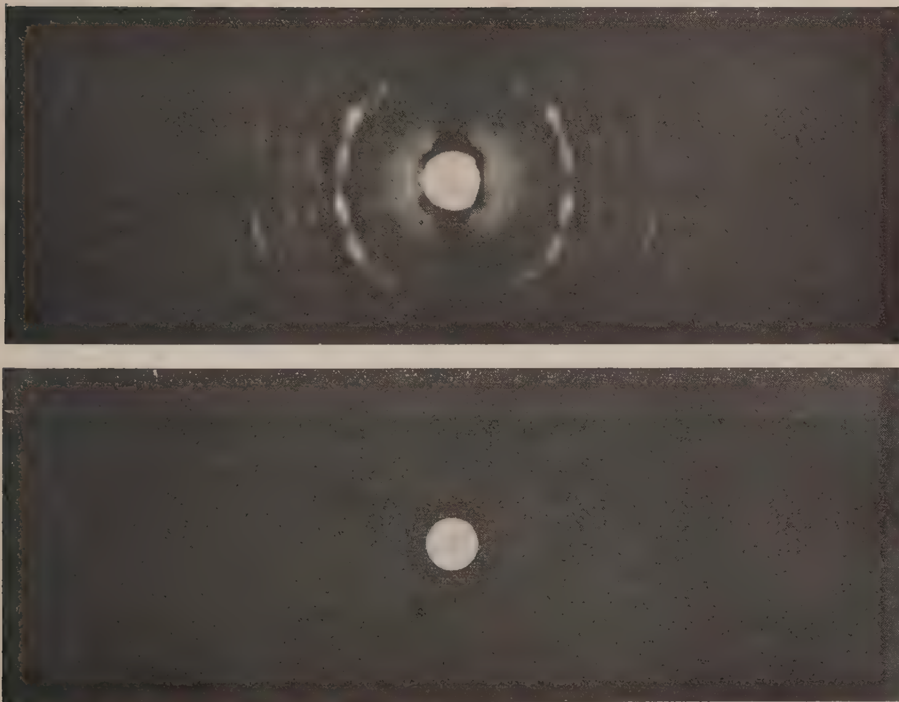


Fig. 1. X-ray diffraction photographs of the nacre. Above: *P. maxima* (rotation axis, parallel to the horizontal growth direction). Below: *P. margaritifera* (rotation axis, which crossed at right angle with the horizontal growth direction).

respectively, and show that the orthorhombic *b* axes of small aragonite crystals in this layer are oriented nearly parallel to the axis of the fibrous arrangement.

Aragonite belonging to orthorhombic crystals is optically biaxial negative, and the plane of optical axes is parallel with the (100). Therefore, the orientation of crystal axes can be determined by investigating the optical properties of the crystal. Now, when the thin sections parallel to the inner shell surface were observed under the conoscope, a directions image consisting of black hyperbolae and coloured lemniscate rings is found in most regions of the nacreous layers, as shown in Fig. 2, and coincides with that produced by thin slices of single aragonite crystals prepared perpendicularlly to their orthorhombic *c* axes. Judging from the optic pictures, it is also distinct that the orthorhombic *b* axis of aragonite crystals which build up the nacre of these shells arranges nearly in parallel with the horizontal growth direction of the layer, as the results of X-ray diffraction.



Fig. 2. The directions image given by the nacreous layer of *P. martensii*.

The relationship between the growth patterns and the arrangement of the crystal axis can be observed easily for aragonite crystals of idiomorphic shape with well developed faces under the optic and the electron microscopes. In Fig. 3, the angles appearing on the basal plane (001) of growing crystals show two dominant values of about 116° and 123°. The value 123° in these two dominant angles is known as the angle between (010) and (110) faces of aragonite, so the orientation of their orthorhombic *b* axes is decided. Aragonite crystals in parallel and volute pattern steps deposit in parallel one another except several crystals, and the orientation of their orthorhombic *b* axes is considered to be in agreement with the horizontal growth direction of the shells in comparison with the results obtained by the polarizing microscope and the X-ray diffraction techniques (Fig. 3).



Fig. 3. The relationship between growth patterns and arrangements of aragonite crystals on the nacreous surface of *P. martensii*. Showing the central part of a volute pattern in (a), and the boundary of neighboring spiral growth steps in (b). ×300

Discussion

The nacreous layer, in the genus *Pinctada*, exhibits laminary structure piled up alternatively with conchiolin membrane and crystal lamina, where crystal growth is governed by variations of the calcium carbonate supersaturation and the quantitative difference of organic matrix and the other factors around growing crystals[2),3)]. Because the direction and the magnitude of horizontal growth of shells are varied with differences of their age and environments, the layer is complicated in laminary structure.

As SCHMIDT (1923)[4] points out in the studies concerning crystalline structure of the shells, the directions image varies not only with the thickness of preparations but also by modes of the accumulation of crystal lamellae. On the other hand, the author (1958)[1] reported that in *Pinctada martensii*, the nacre is composed of the mosaic aggregation of minute aragonite crystals all having their orthorhombic b and c axes nearly parallel to the direction of growth horizontal and vertical to the inner shell surface, respectively, but the mode of the crystal arrangement is different with every portions, or discontinuous layers of nacre. From the observation mentioned above, it is also found that aragonite crystals in regular patterns develop by parallel growth and the orientation of their orthorhombic b axes is nearly parallel with horizontal growth direction of the layers. Of course, laminary structure differs from portion to portion of the nacre.

However, spiral growth observed in the nacreous surface is just like to the spiral step created on the faces of single crystals which are grown by screw dislocation, and occurs very often at low supersaturation of calcium carbonate.

These facts suggest that the growth direction of the shell are closely related to the arrangements of the crystallographic axes of aragonite in the nacre, and the mechanism of the formation of growth pattern steps in the layer which develops by parallel growth of crystals, can be explained by the mechanism of growth of single crystals.

The author expresses his sincere thanks to Director Katsuo TAKAYAMA of National Pearl Research Laboratory and Prof. Toshio SUDOU of Tokyo University of Education for their kind guidance. Thanks are also due to Mr. K. HIRANO of Tokyo Institute of Technology for his useful advices.

References

1) WADA, K.: *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **24**, 422–427 (1958).
2) ——— : *Bull. Natl. Pearl Res. Lab.*, **2**, 74–93 (1957).
3) WATABE, N. SHARP, D. G. and WILBUR, K. M.: *J. Biophysic. and Biochem. Cytol.*, **4** (3), 281–286 (1958).
4) SCHMIDT, W. J.: *Zool. Jahrb.*, **45**, 97–106 (1923).

鮭鱒流網の張力測定—I.

近藤 仁・鈴木 誠

(1959年6月29日受理)

THE MEASUREMENTS OF TENSION ON THE SALMON DRIFT NET—I.

Yasusi Kondo and Makoto Suzuki*

The measurements of tension on the salmon drift net were carried out by the strain gauge and these were mainly done on the net in still water. The results obtained are as follows;

1) Schematic diagram to show the distribution of tension is shown in Fig. 1.
At the points nearer to both the head and the foot margins of the net, ununiformity of tension becomes more evident, while at the points nearer to the middle part of the net it is gradually equalized. The values of ununiform tension are 55～0g. at the head part of the net, 92～0g. at the foot, and equalized tension is 15g. The extent of equalized tension is between 1/6 line and 2/3 of the net from the head.

2) When the weight of lead increases at the lead line, the ununiformity of tension at both the head and the foot parts appears more remarkably but the extent of equalized tension is of the same area in the case of 1)

3) The tension on the hanging lines (Tsuriito) is nearly 130g. in usual, but when the lead line is pulled, the tension remarkably increases as shown in Fig. 6.

I. 緒 言

鮭鱒流網漁業の歴史は，決して短いものではないが，該漁具に関する研究は割合少く[1]，また漁具の構造に関して，顕著な改変も行われなかつた。

鮭鱒流網の構造は非常に簡単であるから，さほど問題として採り上げるべき事項は一見ないように思われる。しかし簡単であるだけに，些細なことでも割合大きく漁具の性能に影響することがあるだろうし，また揚網に機械力を用いるようになつたために，漁具が従来のままでは不適当である点もあることと思われる。それで漁具の構造的再検討の資料をうるため，現在実用されている鮭鱒流網について，各部の張力測定を行つた。

II. 実 験 方 法

1. 供試漁具： 実験に用いた漁具は，現在北洋で使われているもので，一反の概要はつぎのごときものである。

身網； アミラン 210^D, 16 本合，蛙又4寸目，60×750 目
縁網； アミラン 210^D, 21，27，45 本合，蛙又4寸目，0.5×3×750 目（外側のみ 2.6 寸目）
浮子綱； マニラ，2×3子，10 匁，網付 51.5m， 2本重ね
沈子綱； マニラ，2×3子，20 匁，網付 49.9m， 2本重ね
浮子； 塩ビ合成アバ，円筒型，浮力 220g.，65 ヶ
沈子； 鉛，円筒型，重量 93.8g.，60 ヶ
吊糸； アミラン 210^D, 45 本合， 2.7m 2つ折，58 本

この網を5反連結して設網し，主としてその中央の網で張力を測定した。

* 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish. Minato-ku, Tokyo, Japan).

2. 実験場所: 実験は 1958 年 11 月に神奈川県の相模湖で，1959 年 2 月に千葉県の館山湾で行なつた。この実験では主として基礎的資料をうるのが目的であつたので，なるべく海況的条件の加入を避けるような場所および位置の選定に努めた。相模湖では網を敷設した附近で，2 cm/min 位の流れであり，ほとんど無風状態であつた。館山湾では潮の干満による停潮時に測定を行つたので，両地の場合とも，水の流動に依る測定値への影響は，なかつたものとして取扱つた。

3. 測定装置: 張力測定の方法は既報[2] と同様に，電気抵抗線歪計を用いた。この実験においては，検出装置は常時水中に置かれるので，これに適応させるために，つぎのごとく二三の処置をした。

a) 検出装置の絶縁抵抗が湿気のために低下することは，電気抵抗線歪計では，特に注意すべきことで，500 MΩ 以下での測定は避けるべきである。それで絶縁低下を防止するため，抵抗線貼付部に 1 mm 程度の厚さに，特殊防湿塗料を塗布し被覆した。このために検出装置の特性に変化を与えることはなく，また予備試験において反復荷重を加えつつ 48 時間海水に浸漬して置いても，500 MΩ 以上を保持することができた。

b) 検出装置を水中で長時間使用する場合，温度補償を行う必要がある。このためにブリッヂ回路を，実験室内における場合と異にし，温度補償回路とした。すなわち検出装置の鋼板に 2 枚の同じ規格の抵抗線を貼り付け，1 枚を測定用ゲージとし，他の 1 枚は鋼板に生ずる歪にほとんど無関係な位置に貼り付け，温度補償用ゲージとした。回路の改良により，経過時間による温度差，および水深等測定位置による温度差に起因する抵抗線の抵抗温度係数，および線膨脹係数等による影響を補償することができた。この結果，測定値に温度による誤差は含まないものとした。

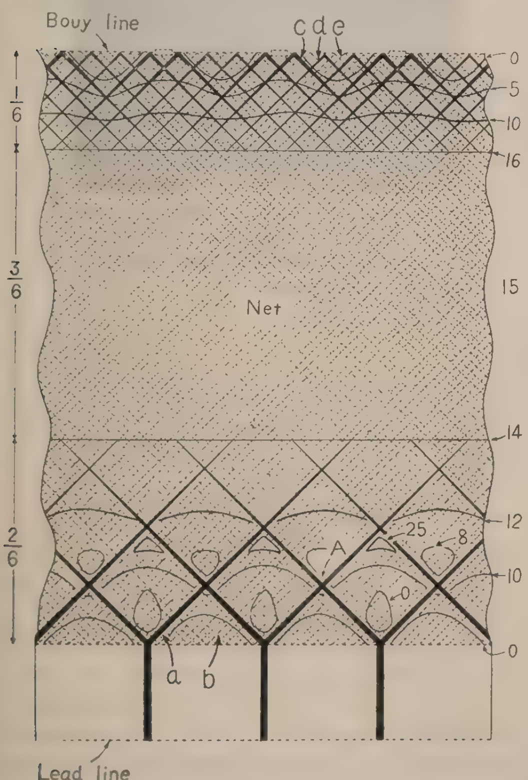


Fig. 1. Schematic diagram of tensile distribution.
Straight full-line; Thickness of line is in proportion to tension
Curved line; Line of equal tension.
Number; Value of tension (g.)

c) 検出装置の鋼板は，測定すべき張力の大きさがかなり違うことが予想されたので，測定張力に適応できるような，2 種類のものを用いた。すなわち網地と吊糸の張力測定には既報[2] のものを用い，綱類の張力測定には，長さ 200 mm，幅 50 mm，厚さ 0.75 mm，1.0 mm，1.2 mm の鋼板に曲率半径 200 mm の彎曲を与えて，焼入れしたものを用いた。貼付けた抵抗線は格子型で，線径 0.025 mm の銅 (55〜56%)，ニッケル (44〜45%) の合金で，抵抗値 120 ± 0.3 Ω，歪感度 2.0，温度係数 $\pm 2 \times 10^{-5}$ 以内，線膨脹係数約 15×10^{-6}/°C のものである。増幅装置は動荷重用携帯型自蔵乾電池式のものを用い，また同時多点測定用スイッチボックスを併用した。

III. 実験結果および考察

1. 網地の張力分布: 流網が静水中に投網され，浮子綱がたるみなく，一直線に敷設された場合において，網地，吊糸の張力を測定したが，その測定点は Fig. 1 に示す a 線に相当する線上で 201 点，それ以外の線上で 345 点であつた。測定結果を模式的に図示したものが Fig. 1 である。

この図により知られるごとく網裾では，沈子綱と網地を連結している吊糸が，網地に縛着されている網目を頂点として，その網糸の延長線すなわち a 線上のみに，主として張力が分布し，他の網糸線上では非常に小さい。今網裾側の代表的網糸線として，a 線および吊糸と吊糸の概ね中央にある網糸線 b 線を選び，この 2 線上における張力の変化を示すと Fig. 2 のごとくである。

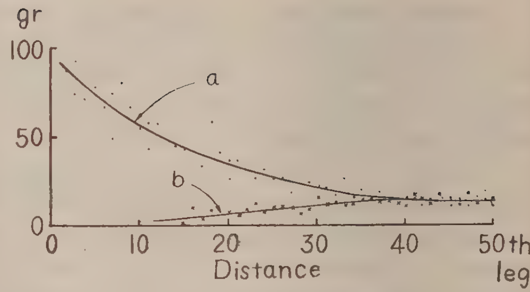


Fig. 2. Attenuate curved line of tension.
Distance; Number of legs from the head margin of the net.
a, b, ; Shown in Fig. 1.

Fig. 2 でわかるごとく最大張力を示す a 線の第 1 脚の張力は 92g. であるが，各々の a 線ではかなり不同がある。これは網目の不揃いや吊糸縛着の工合の違いによるものであろう。第 1 脚から浮子方に向うに従つて，張力は減衰して，概ね第 40 脚で一定値になり 14g. を示す。ある a 線は隣りの a 線と，さらにその隣りの a 線と順次交錯する。第 1 番目の交錯点を水中撮影したのが Fig. 3 である。ここでは普通の処の網目とやや形が異るので当然張力も異常変化があると考えられるが，測定値を検討したところでは，a 線上では僅少な差異しかないが，a 線に隣接する脚ではある程度の影響が見られた。

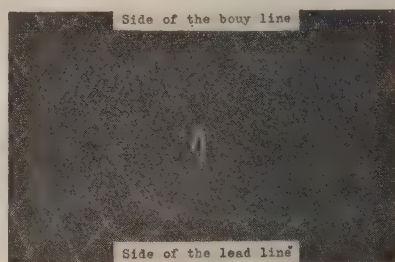


Fig. 3. Transformation of meshes at cross point A (shown in Fig. 1) (photographed with submarine camera at underwater 5.5m.)

b 線上では，網裾から第 8 脚附近までは張力が零かあるいはほとんどない状態で，それより網地の中央に向うにしたがつて，徐々に張力が増加し，第 40 脚附近で 14g. となる。

浮子方の代表的網糸線として，Fig. 1 に示すごとく，浮子にごく接近して縛着されているものを c 線，浮子間で浮子綱に縛着されているものを d 線，目通し糸に掛かつているものを e 線と称すると，それらの張力を 160 点につき測定した結果は Fig. 4 のごとくである。この図から c 線第 1 脚の張力は 55g. d 線のそれは 35g. で，いづれも沈子方に向い減衰し，概ね第 20 脚で一定張力 16g. となる。e 線上では第 5 脚附近までほとんど張力は作用せず，それよりさきで徐々に増加し，第 20 脚附近で 16g. となる。

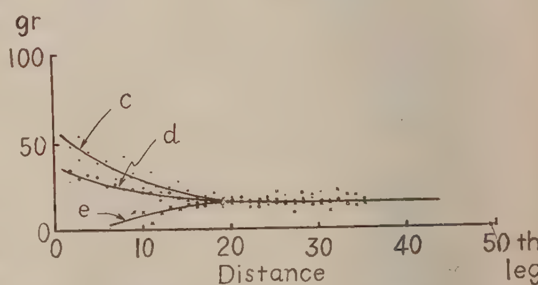


Fig. 4. Attenuate curved line of tension.
Distance; Number of legs from the foot margin of the net.
c, d, e, ; Shown in Fig. 1.

沈子方および浮子方において，このように張力の不均衡が生じたのは，漁具の構成法に起因するものである。すなわち沈子方では，沈子および沈子綱の沈降力が，吊糸の本数にほぼ等分され，網地の縛着点に集中的に作用するので割合大きな不均衡が生ずる。なお沈子方が浮子方に比し縮結がやや多いことも不均衡を助長しているのであろう。浮子方でも同様であるが，縛着ケ所が多いため，不均衡が小さく，かつ，早く一定値に達するのである。斯様に張力不均衡な部分は，浮子方から網丈の 1/6，沈子方から 1/3 の範囲である。し

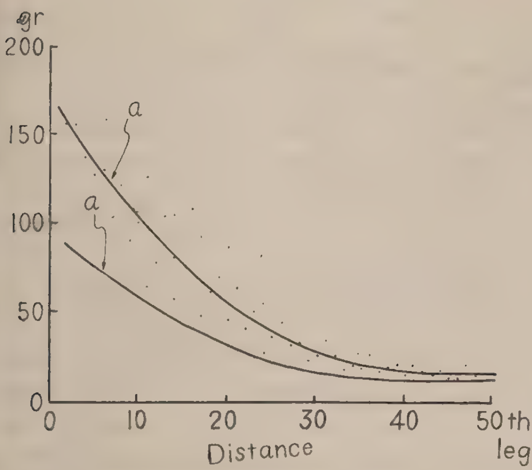


Fig. 5 Attenuate curved line of tension.
Distance; Number of legs from the head margin of the net.
a ; Shown in Fig. 1.
a′; Weight of lead was increased 6 kg. per 1 Tan. (1 Tan is a name of the unit of gears, the length of the lead line at 1 Tan is 49.9 meters)

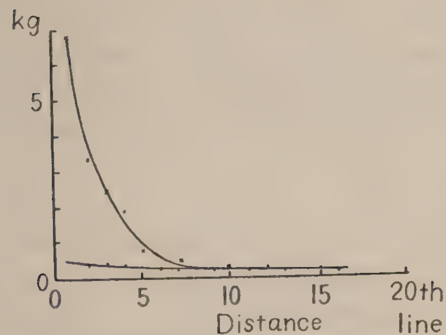


Fig. 6 Attenuate curved line of tension.
Distance; Number of hanging line (Tsuriito) from the point where the pulling tension is added.
• ; Pulling tension = 5 k.
× ; Pulling tension = 17.5 kg.

たがつて網丈の中央附近 1/2 だけが期待する状態に網地が展開していることが知られる。

2. 沈子を増した場合の網地の張力: 実験に用いた流網が，水中に没する場合，網地に作用する張力を推定するため，ほぼ余剰浮力に相当する沈子，すなわち1反に 6 kg. の鉛沈子を平均に吊糸下部に添加して，網裾側の主な網糸線上の張力を測定した。a 線上の測定結果を図示すると Fig. 5 のごとくである。

添加された沈降力は吊糸から，網地の縛着点でほぼ2脚に分れ，a 線上に主として伝わり減衰することは，普通の場合と同じであるが，作用荷重が増しても，張力の平均化する処は変らず，第 40 脚附近である。沈子量が普通の場合の a 線上の張力と比較すると，縛着点に近い程，沈子増加の影響が大きいが，これは荷重が増加しても，張力分布範囲が広がらぬためである。

3. 吊糸の張力: 流網の浮子綱をたるまない程度に張つて静水中に敷設した場合，吊糸 14 本について実測した結果は 130 ± 20 g. であつた。この不同は吊糸の長さの不揃いや，沈降力の不同によつて生じたものであろう。

流網を揚網する場合は，沈子綱を引張つて揚網する。この場合の吊糸の張力を知るための基礎的方法として，静止している流網の沈子綱の一端をその延長線方向に引張ると，吊糸の張力は最初大きい張力を示すが，網が動きかけると張力は減少する。この場合の最大張力を測定した結果を Fig. 6 に示す。

加えた引張力が 5 kg. の時は，作用点に最も近く，かつ反対側の吊糸の張力が 0.52 kg. となるのみで，他の吊糸はほとんど影響を受けない。さらに作用力を 17.5 kg. とした場合は，第1番目の吊糸が 6.7 kg. すなわち作用力の 38% を受持ち，第2番目の吊糸以後は急激に低下し，第8番目の吊糸附近で平常時の張力に復る。2個の資料しかないので推論することは無理であるが，このように端に近づくにしたがい吊糸の張力が，指数函数的に増加するのは，つぎのようなことと考えられる。すなわち沈子綱は引張られると，その方向に移動するが，作用力が小さい間は移動をしないので，主として網目の変形でそれが賄われるのであろう。作用力が大きくなると，賄いうる限度を越し，浮子や網地を引き下げたり，それらの流水抵抗に打ち勝つて横に曳きずるようになるので，吊糸の張力が急増してくるのであろう。

IV. 要　　約

漁具用電気抵抗線歪計を用い，主として静水中に敷設した鮭鱒流網について，張力測定を行ない，つぎのごとき結果を得た。

1) 網地の張力分布の概要は Fig. 1 のごとくであり，沈子方で 92 g.～0 g.，浮子方で 55 g.～0 g. のごとく，網地の部位によつて張力は大きく異なる。然し網地中央に至るにしたがい，平均化し，浮子方から計り網丈の 1/6 の深さ附近から，4/6 の範囲では，ほぼ一定の張力 15 g. を示した。

2) 沈子を増したり，それと同じ様な状態となつた時は，網縁近くの張力不均衡は，平常時に比してかなり大きいが，平均化した張力の分布する範囲は，平常時と概ね同じである。

3) 吊糸の張力は平常時では 130 g. 位であるが，沈子綱を引張ると Fig. 6 のごとく，急激に増大する。

擱筆するに当り，この実験について終始御懇篤な御指導を給わつた，東京水産大学名誉教授田内森三郎博士，東京工業大学草間秀俊博士に衷心から感謝申し上げるとともに，測定の援助をしていただいた　赤池清人，苅部信二，宮田洋，木本清暉の諸氏に謝意を表します。なお研究費の一部は昭和 33 年度農林漁業試験研究費によつたことを記すとともに，関係諸氏の御好意を深謝します。また測定に用いた漁具を貸与された日本水産株式会社に深謝する。

文　　献

1) 薬室親正・石井謙治：漁研技報，No. 8, 29～82 (1956).
2) 草間秀俊・近藤　仁・鈴木　誠：本誌，**21**, No. 9, 973～974 (1956).

アゴハゼに見出された櫛鱗の棘の退化によつて生じた円鱗について

小林久雄・近藤　泉

(1959 年 6 月 30 日受理)

ON THE CYCLOID SCALES DERIVED FROM THE DEGENERATION OF CTENII OF CTENOID SCALES FOUND IN A GOBIID FISH *CHASMICHTHYS DOLICHOGNATHUS DOLICHOGNATHUS* (HILGENDORF)

Hisao KOBAYASI and Izumi KONDO*

Scales of *Chasmichthys dolichognathus dolichognathus*, a species of Gobiid fish, are cycloid in the early developmental stage, but as the fish grow up, ctenii are formed on their apical margin, until they become complete ctenoid of Gobiidae type. When the standard body length of the fish attains to 20 mm, the formation of ctenii of scales is completed, after which ctenii begin to fall off and gradually decrease in number, finally changing from weak ctedoid with traces of ctenii into the secondary cycloid.

Cycloid scales found in adult fish are formed secondarily by the degeneration of ctenii, and they differ accordingly from ordinary cycloid ones primarily appeared.

Chasmichthys dolichognathus dolichognathus has hitherto been regarded as primitive in lepidology having so-called cycloid, on the one hand, and as one of the specialized form of Gobiid fish in phylogeny carrying glossopharyngeal bones of L type show by Mr. TAKAGI on the other hand. The contradiction above-mentioned may be dissolved by confirmation of the secondary cycloid scales in this species.

緒　　言

硬骨魚類の鱗は櫛鱗と円鱗に 2 大別され，これは魚類の進化と深い関係をもち，円鱗はより原始型であり一般的に見て同類の魚類で円鱗をもつものは櫛鱗をもつ魚より原始的であるとの見方がなされている。著者等がここで述べようとするものは鱗学的に問題になつていたアゴハゼ *Chasmichthys dolichognathus dolichognathus* (HILGENDORF) で観察したものであり，一度形成せられた櫛鱗の棘が脱落して再び円鱗となるため˘ このような円鱗は櫛鱗より原始的ではないということを明かにしたいのである。

ハゼ科魚類の鱗に関してはすでに小林 (1952), TAKAGI (1953) の業績があり，これらによるとハゼ科としては円鱗のみをもつものは最も原始的であり，櫛鱗魚で体の一部に円鱗を残しているものはやや原始的であり，ハゼ科としては鱗の後縁の全縁に一列の棘をもつものが最も進化したものであると考えられていた。そして小林 (1952) はアゴハゼは円鱗魚であることによつて一応原始的なものと考えていたが，当時魚の標本の不足から決定的の論議はしなかつた。一方高木 (1950) によつて舌咽骨の形態から考察されたハゼ科の系統関係によると，アゴハゼは L 型の舌咽骨をもつており，最も特化した種であると認めた。すなわち鱗相から見た系統関係と舌咽骨から考察された系統関係の間に，アゴハゼにおいては一致しないものがあつた。これについて後に松原 (1955, はハゼ科では円鱗のものが原始的であるとの説には同意できないことを表明した。

今回著者等はアゴハゼの幼魚から成魚に至る間の鱗を詳細に観察した結果，一度形成された棘が脱落して

* 愛知学芸大学生物学教室 (Dept. Biol., Aiti Gakugei Univ.).

円鱗乃至は痕跡的な櫛鱗となることを知り，松原の指摘したことがアゴハゼ属については事実であることを認めえたのでその結果を報告し，アゴハゼの系統的位置を改めて検討したいと思う。この研究に使用した材料の大半は田口和春氏が採集したもので，これをこの研究のため提供して下さつたことを感謝する。

材料および方法

この研究に用いた材料は体長 15mm から 57 mm に至る 92 個体で，体側中央部，尾柄側面部の皮膚を鱗をつけたままはぎとり Mall's solution で処理し alizarin red で染色し観察した。

観察結果

櫛鱗をもつ魚類でもその初生鱗は円鱗であることが多い。このことは櫛鱗魚も円鱗魚から進化してきたことを示しているものと考えられる。アゴハゼの場合でもその初生鱗は円鱗である。著者等が入手しえた最小体長 (15mm) のものですでに体の全域に鱗が形成されており，鱗の後縁には長さ 0.1mm 内外の棘が 5 本内外できている。しかし後頭部とか鰭の基部などでは鱗の発生がおくれており，初生鱗の形態を示すものが観察される。それによると (Fig. 1) 最初 alizarin red で染色される直径 0.05mm 内外の円板が生ずる。この円板は後になつても大きさはほとんど変ずることなく focus となるものである。やや発生が進むと前半部は 4 乃至 5 に切断せられて横に染色域が広がつてくる。この円板の切れ目が groove ならびに ridge となるものである。すなわちアゴハゼでは focus と ridge が同時に形成される。その後 ridge は focus の両側面と前面にのみ付加され，後方には形成されないので鱗の形は長さく幅となつてくる。



Fig. 1. Early development of the sculpture of scales on the occiput of *Chasmichthys dolichognathus dolichognathus*.

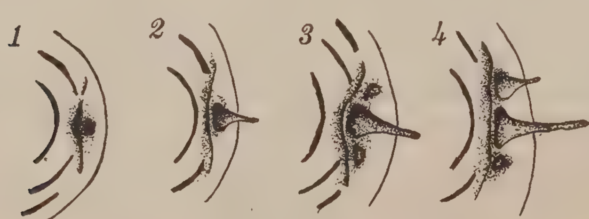


Fig. 2. Early development of ctenii.

棘の形成が体長何 mm 位ではじまるかは不明であるが，体長 15mm の個体ではすでに長さ 0.1 mm 内外の棘が 5 本内外できていることから，体長約 10mm の頃形成がはじまると推定される。棘の初期発生の状態は体側中央部のものでは観察できなかつたので，発生の後れている後頭部のもので観察した。

はじめ鱗の後縁よりやや内部に alizarin red でよく染色される微粒状物質の集合体を生ずる (Fig. 2)。後にこれらの微粒状物質はたがいに融合して棘の原基となる。そして次第に後方に伸長して最大のもので 0.1 mm 位に達する。この 1 本の棘を中心として上下にさらに棘の原基が生じ，や

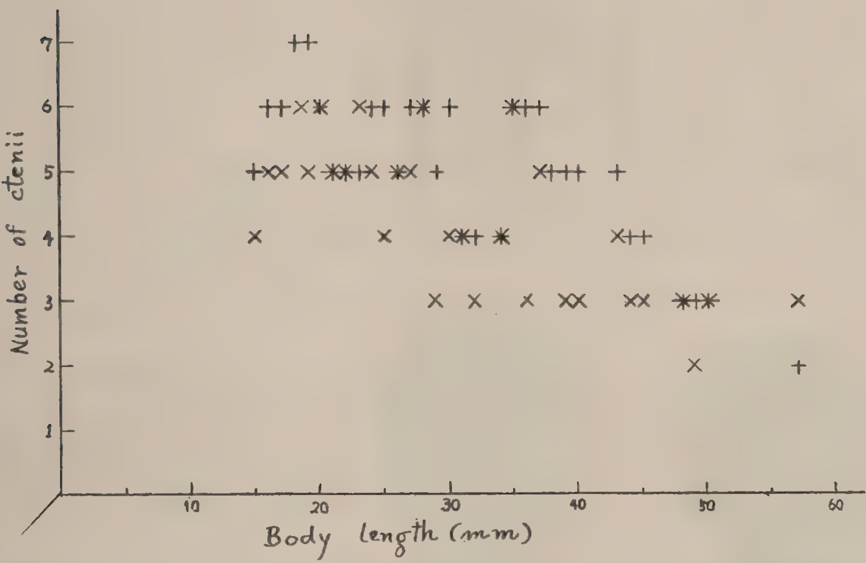


Fig. 3. Relation between the number of ctenii and standard body length of the fish.
×: Scales in the latero-central region of the body.
+: Scales in the lateral region of the caudal peduncle.

がてこれも棘にまで成長する。棘の数は体長 18 mm のもので約 6 本である。そして体長が 20 mm に達するまでに大部分が完成される。それ以後は棘の数は増加することなく反対に減少して体長 57 mm の個体ではわずか 3 本内外が認められたにすぎない。体長が 25 mm 内外に達すると円鱗が現われてくる。体側中央部（L. C. B.）ならびに尾柄側面部（L. C. P.）において円鱗と櫛鱗の割合をしらべてみると（Table 1），体側中央部では体長 20 mm まで，尾柄側面部では 30 mm まですべて櫛鱗であつて円鱗は認められない。しかし体長がそれ以上になると棘が脱落して次第に円鱗となつてくる。体長が 57 mm に達すると体側中央部で櫛鱗は 4%，尾柄側面部では 12% が櫛鱗であつて残りはすべて円鱗である。

すなわち，これら体長の大きなものに観察される円鱗は一度櫛鱗となつたものの棘が脱落して生じたものであつて最初から円鱗で出発したものではない。この櫛鱗から円鱗への移行課程を観察すると，まずはじめに棘の先端が丸味を帯びてきて，棘の長さが短かくなつてくる。さらに棘の崩壊が進むと，その途中が欠けて細くなつたり，先端が折れたりして遂には棘の根部のみが鱗の後端に 1 列にならぶようになる。根部ははじめのうちは大きく，その形も不定であつて凹凸がはげしいが，やがて丸味をもつてきて粟粒状となつてしまう。この根部もさらに体長の増加に伴つて脱落し，遂には円鱗となつてしまう。体長 30 mm 内外の個体の皮膚を鱗をつけたまま全面はぎ取つて観察すると Fig. 4 に示すような種々の段階にある櫛鱗が見られ

Table 1. Percentage of the number of ctenoid in total scales of the L.C.B. (Latero-central region of the body) and L. C. P. (Lateral region of the caudal peduncle). B. L.: Standard body length.

B.L. (mm)	L. C. B. (%)	L. C. P. (%)
16	100	100
20	100	100
25	64	98
27	84	100
28	54	100
30	86	100
31	80	100
32	51	66
36	54	74
37	24	61
39	18	58
50	8	38
57	4	12

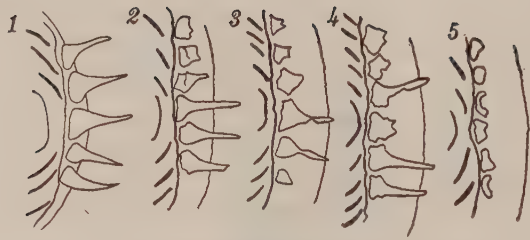


Fig. 4. Degeneration processes of the ctenii.

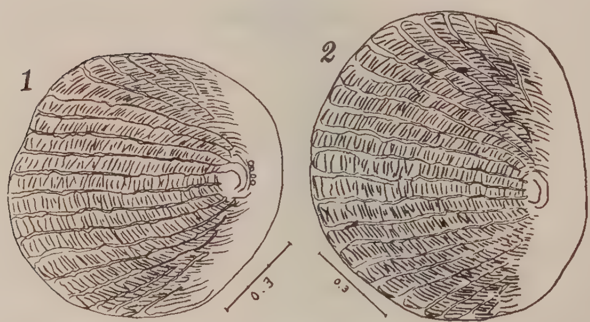


Fig. 5. (1) Weak ctenoid having small vestigeal ctenii, from latero-central region of the body, 59.0 mm in body length. (2) Secondary cycloid showing completely disappeared ctenii, from latero-central region of the body, the same body length with the former.

る。この場合1は尾柄側面部に多く，5は体側中央部に多く観察される。1は完全な棘であり，5は根部のみとなつたものである。この根部が脱落して円鱗となつた場合，脱落して間のないものでは根部の跡が鱗の後縁に残つているから，それと知れるが，脱落してから後時間の経過したものではその痕跡も消失してしまう。

考　　察

本邦産のハゼ科の鱗については，すでに広汎な研究がなされている。殊に TAKAGI (1953) は本科魚類の鱗を4つの型に分類しており，アゴハゼは痕跡的な棘乃至は円鱗を有するやや原始的な種として Type C に属せしめている。しかし前述のようにアゴハゼの痕跡的な棘または円鱗は一度形成せられた棘がくずれた結果生じたものであつて，この点他魚にみられる単なる円鱗や弱い櫛鱗とは意義を異にするものと考えなければならないことを知る。このことはアゴハゼを Type C，，すなわち小林 (1952) および TAKAGI (1953) の考えたようにやや原始的な種として取扱うのは不適当であるとする考えに導く。同類の魚類で円鱗魚は櫛鱗魚より原始的な種（例えば生きた化石魚として有名な *Coelacanthus* や，櫛鱗魚の多くがその初生鱗は円鱗である）と考えられ，櫛鱗魚はより進化した種であり，また痕跡的な棘をもつものは円鱗魚と櫛鱗魚の中間に位置するものであると考えられているが，このことは一般の魚類において鱗の個体発生の見地からほぼ正しいと見てよいと思われる。アゴハゼの場合はその成魚の鱗のみを観察すると (Fig. 5) 鱗の後縁近くに粟粒状の根部のみからなる棘をもつ櫛鱗乃至はそれの脱落して生じた円鱗のみをみることとなり，やや原始的な種として取扱われることになる。しかし幼魚のものをみると良く発達した棘をもつており，幼魚だけについてみると Type D すなわち典型的なハゼ科型鱗をもつので，ハゼ科としては最も進化した段階にある魚と考えられる。アゴハゼの鱗の初生鱗が円鱗であり，それが次第に良く発達した櫛櫛となり，さらに棘がくずれて痕跡的な棘となる過程は，これまでアゴハゼが通過してきた鱗相の進化の過程を示しており，しかもこの魚は鱗相のみからみると一般の魚類のそれに比較して，最も進化した段階をすでに通過して現在では鱗の退化を来しつつある稀な異例の一つであると考えざるをえないのである。親魚が円鱗をもつにかかわらずアゴハゼは櫛鱗魚より特化した状態にあるものと考えて誤ないと信ぜられる。

小林および TAKAGI が原始的とした種の中には，円鱗から櫛鱗に移りつつある真の原始的な種はもちろんのこと，アゴハゼのように棘の退化の結果生じたものも若干含まれているかも知れず，この2者は一見同じように見えても同列に扱うことは不適当であり，少くともこの魚はハゼ科として最も進化していると考えられ櫛鱗魚の段階以上に位置づけらるべきものであると信ぜられる。

一方高木 (1950) はハゼ科魚類の舌咽骨を研究した結果，アゴハゼは最も特化した型であるところのL型の舌咽骨をもつていることを明らかにしたことは前述の通りで，その結果アゴハゼにおいては鱗から考察さ

れた系統的位置と舌咽骨から考察されたそれと不一致が認められ，松原（1955）をしてハゼ科では円鱗魚が原始的であるとの説に同意できないといわしめたのである。

すでに詳しく記したようにアゴハは鱗学的にも高木の舌咽骨の研究結果と一致し，ハゼ科内では最も特化した魚の一種であるとの考えに到達したのである。

摘　　要

（1）アゴハゼの初生鱗は円鱗であり，それが発達して櫛鱗になつてから，二次的に棘の崩壊が起つて円鱗乃至は痕跡的な棘をもつ櫛鱗が生ずる。

（2）櫛鱗の棘は魚の体長が 20 mm に達するまでに大部分形成を完了し，それ以後棘の数は増加することなく反対に減少する。

（3）体側中央部のものと尾柄側面部のそれとを比較してみると，尾柄側面部のものに棘はよく発達している。

（4）体側中央部のものでは体長 20 mm 内外，尾柄側面部のものでは 30 mm 内外で棘の崩壊が起る。

（5）アゴハゼの体側中央部および尾柄側面部に観察される円鱗は櫛鱗の退化の結果生じたものであつて一般の円鱗とはその意義を異にしている。そしてハゼ科または他の多くの円鱗魚の中にも櫛鱗の退化によつて生じた円鱗の所持者が含まれているものと想像せられる。

（6）アゴハゼの系統学的位置は鱗学的にみても舌咽骨の場合と一致し，ハゼ科としては最も進化した位置におくべきである。

引 用 文 献

1) 高木和徳：ハゼ科魚類の舌咽骨にみられる系統について，魚雑，I (1), pp. 37～52 (1950).

2) ————：A Study of the Scale of the Gobiid Fishes of Japan. Jour. Tokyo Univ. Fish., XXXIX (2), pp. 231～253 (1953).

3) 小林久雄：魚類の類縁考察資料としての鱗相の価値．魚雑，I (4), p. 227 (1950).

4) ————：鱗の比較形態を根拠とした日本産淡水魚の系統と進化（予報）．愛学大研報，I (1), pp. 82～83 (1952).

5) ————：円鱗と櫛鱗の区別．動雑，LIII (6), pp. 32～33 (1954).

6) ————：魚類の鱗の比較形態と検索．愛学大研報，VII (特), pp. 1～104 (1958).

7) 松原喜代松：魚類の形態と検索 II. pp. 809～810 (1955).

ノリ糸状体の生長—I.

垂直的生長について

尾形英二

(1959 年 7 月 1 日受理)

STUDIES ON THE GROWTH OF *CONCHOCELIS*—I. VERTICAL GROWTH OF *CONCHOCELIS* FILAMENTS

Eizi OGATA

As previously reported in short communication, germlings of *Conchocelis* spread the vertical filaments steadily in pearl oyster shells (Plate I, A∼D). Subsequent cultivations and observations were succeeded. Results obtained are summarized as follows:

1. Tap-root-like filaments grow downwards to pierce through the shell matrix and reach the opposite shell surface (Plate I, E).
2. Afterward anastomosed filaments thrive at the inside layer close to opposite shell surface (Plate I, G).
3. Lateral branches produced from upper portion of vertical main filaments tend to grow upwards, but such as produced from lower portion conversely tend to grow downwards (Plate I, E∼G).
4. No remarkable differences are observed between both growth patterns of filaments in two different matrices, pearl oyster shell and oyster shell (Plate I, H).
5. Details of perforating growth and branching are clearly shown by means of particular technics (Plate II, A∼E).

ノリ糸状体が，貝殻等の穿孔基物の内層に向つて，垂直的に相当の生長を示すことは，さきに短報[1]で報告した。著者はその後ひきつづき実験を行つて，さらに二三の知見をえたので，短報の補足をかねてここに報告する。

材料および方法

材料のノリ母藻は，下関市吉見地先で養殖されていた *Porphyra tenera* で，昭和 33 年 12 月 6 日と 12 月 18 日に 2 回播種して 2 系列の培養をはじめた。この 2 系列の両方から適宜一定期間後にサンプリングを行つた。

貝殻としては，カキガラよりも透明で細工のしやすいアコヤ貝の殻を用いた。ふつうに行われている播種と同様の方法で，*Porphyra tenera* のいわゆる果胞子をアコヤ貝の内面を上にして全面にまき，自浄海水中で室内培養した。培養は室内の直射日光の当らない場所 (500∼2000 lux，室温) で行つた。このようにして培養されたノリ糸状体の垂直的生長を観察するため，つぎのような特別の工夫をした。まず，フォルマリンで固定した貝殻の任意の部分を切断して，短冊型の小片を数個切りとる。それらを重ねあわせて互にレークサイドセメントで接着すれば貝殻小片のブロックができる。このブロックの面のうち，貝殻小片の断面ばかりをそろえた面のどちらかを，よく砥石で磨いて滑かにし，この面とスライドグラスとをレークサイドセメントで接着する。つぎにスライドグラス上に接着されたブロックの他の面を，きわめてうすく (100∼200μ) なるまで荒砥ですりへらし，仕上として，目の細かい砥石で断面を滑かにする。このようにして貝殻の

* 農林省水産講習所 (Shimonoseki Coll. Fish.).

断面のプレパラートができるが，研磨した面に流動パラフィンをぬつて顕微鏡観察をすると，さらに透明になつて糸状体が穿孔している断面の様子が観察しやすくなる。

結　果　I.

播種5日後の貝殻断面をみると，すでに糸状体は下方に向い穿孔生長して，20〜30μ に達している (Plate I, A)。これらははじめ1本であつて，多くは垂直に，あるいは斜に下方に向う。10日間の培養では，80μ 前後の深さに達する (Plate I, B)。培養が 20 日におよぶと垂下した糸状体の基部，すなわち貝殻の表面下 5〜20μ のところから枝がでて，あるものは水平方向に走り，あるものは垂下して垂直の枝がふえるようになる (Plate I, C; Plate II, A·B)。そして垂下した枝は 200μ 前後に達し，水平の枝も表面下 30μ 以内の層で密になり，分岐が多くなる。そして表面直下の層を匍匐して，ところどころ表面に達している。

培養が進むにしたがつて垂下する枝はますます伸長するが，同時に水平の枝の発達もいちじるしく，表面からみると，従来多くの人々によつて観察[2)3)4)]された糸状体の形状と同じような放射状生長を示す (Plate I, I〜M)。

30 日のものでは垂下する枝は 300μ 前後に達して，その中央部に近い部分からも枝が分れるが，それは彎曲しながら斜上して表面に達する傾向を示す (Plate I, D)。このころには水平方向の繁茂のために，表層の糸状体の形状は複雑をきわめて，観察が困難になる。

60 日目になると，垂直の主枝は 750〜800μ に達し，肉のうすいアコヤ貝では，多くが下面（殻の外面）の稜柱層に達する。そして培養のはじめに外面（下面）の殻皮および稜柱層を除いてあつた部分では，垂直の枝が真珠層を貫通して下面にとどく (Plate I, E)。また下面に達した垂直の枝のはしに近い部分からでた枝は，上面に近い枝分れの場合と逆に下面に向つて伸長する。この枝は 100 日目 (Plate I, F)，130 日目 (Plate I, G) と日が進むにつれ増加する。100 日目のものではほとんどの垂直の枝が稜柱層に達している (Plate I, F)。130 日目の，殻皮および稜柱層ながい部分の断面においては，はじめに播種した側がどちらであつたか判別に困る程，両面に近いところで糸状体が繁茂する (Plate I, G)。そして垂直の枝は貝殻の厚さが 1000μ におよぶものも，これを貫通して内外面に達する。

上述の観察から，糸状体の枝には，基物の面にそつて，その直下を水平に向う傾向を示すものと，面から遠ざかつて垂直に内層に向う傾向を示すものがあり，後者の途中から生ずる枝分れは，ほぼ中央部から上にできたものは上方に，下の部分にできたものは逆に下方に向う性質をもつているものと思われる。

稜柱層の中でも糸状体は発達するが，真珠層中ほどの繁茂はみられない (Plate I, F)。

上述したような糸状体の生長は，カキガラ中においても同様にみられる。昨年（昭和 33 年 1 月 23 日）播種して約 1 年培養したカキガラの糸状体の断面を，アコヤ貝の場合と同様にして観察したところ，不透明でみにくいが，やはり内外面に貫通する垂直な糸状体の密な存在がみられた (Plate I, H)。したがつて糸状体の生長様式はカキガラでもアコヤ貝でも本質的に差がないとみとめられる。カキガラの稜柱層中では，糸状体の生長は非常に少ない。

アコヤ貝を基物として播種した場合，めだつことは adductor muscle の附着していたあとに，糸状体がよく繁茂することである。adductor muscle のあとは，貝殻の内面に透明層といわれる部分が露出しているところであるが，糸状体が真珠層の部分よりここでよく繁茂する理由は今後の研究にまたねばならない。

横断面でみると，adductor muscle のあとは高さ 30〜50μ 前後の垂直な小さな結晶からなり，他の真珠層の部分より透明である。

結　果　II.

つぎに，表面のごく近くでの穿孔状態をくわしくみるために，はじめから断面に播種して，その生長を観察した結果についてのべる。

方法としては，未播種のアコヤ貝を用い，前と同様にして貝殻小片のブロックを前もつて作り，その断面

をよく滑かにして，その面に播種を行い（昭和 34 年 2 月 22 日），培養をつづけた。プレパラートは，培養中のブロックの端から 1 片づつはぎとり平たい面をさらに砥石ですつてうすくし，そのままスライドグラスにはりつければ，断面にまいた場合の表面直下の穿孔状態がみられる。

20 日目 (Plate II, A·B), 30 日目 (Plate II, C), 50 日目 (Plate II, E), 70 日目 (Plate II, D) と生長して行くが，倍率を高めて観察すると (Plate II, E)，枝分れの様子や，それが表面に達する様子がよくうかがわれる。

これからみると，生長の初期には，平面的にはもちろん，立体的にも放射状であることがわかる。しかしこの培養における水平的生長，すなわち断面に播種したものの生長をその面で観察すると，ふつうの培養の場合示す放射状生長とは，やや異つた様子を示す。

摘　　要

1. アコヤ貝を基物として，ノリ糸状体の垂直方向の生長を観察した。
2. はじめ母胞子から垂直方向に 1 本の糸状体が穿孔し垂下するが，表面直下の基部から，水平方向にも枝がでる。
3. 表面近くの枝は，さらに枝わかれして，陸上植物の匍匐枝のようにのびて，ところどころ表面に達する。
4. 生長がすすむとこのような枝は，表面下 20～30μ までの層で非常に稠密となる。
5. 直根状に垂下する枝は，100 日も培養すると貝殻の下面（外面）に達する。
6. 垂下する枝の，ほぼ中央部から上方でわかれる枝は上に向い，下部でわかれる枝は下に向い，それぞれ両面に達する傾向がある。
7. adductor muscle のあとの部分には糸状体がよく繁茂する。
8. カキガラ中と，アコヤ貝中とでは，糸状体の生長に根本的な差はみとめられない。

終始，激励を頂いた，九大瀬川博士，アコヤ貝を提供して下さつた，山口県内海水試，八柳，芳永両技師に御礼申し上げる。

文　　献

1) OGATA, E.: *Bot. Mag. Tokyo*, **72**, 177 (1959).
2) DREW, K. M.: *Nature*, **164**, 748 (1949).
3) 黒木宗尚: 東北水研研究報告，No. 2 (1953).
4) 右田・大田: 長崎大学水産学部研究報告. No. 5 (1957).

Explanations of Plates

Plate I. A～G: Successive stages of vertical growth in pearl oyster shells, 5, 10, 20, 30, 60, 100 and 130 days cultivated respectively. H: Profile of vertical filaments in oyster shell, cultivated for about 1 year. I～M: Surface views of horizontal growth in pearl oyster shells, 5, 20, 30, 60 and 130 days cultivated. All ×100.

Plate II. A～E: Details of vertical growth and branching, 20, 20, 30, 70 and 50 days cultivated respectively. All ×100 except E (×200).

Plate I. Features of vertical or horizontal growth in *Conchocelis* filaments.

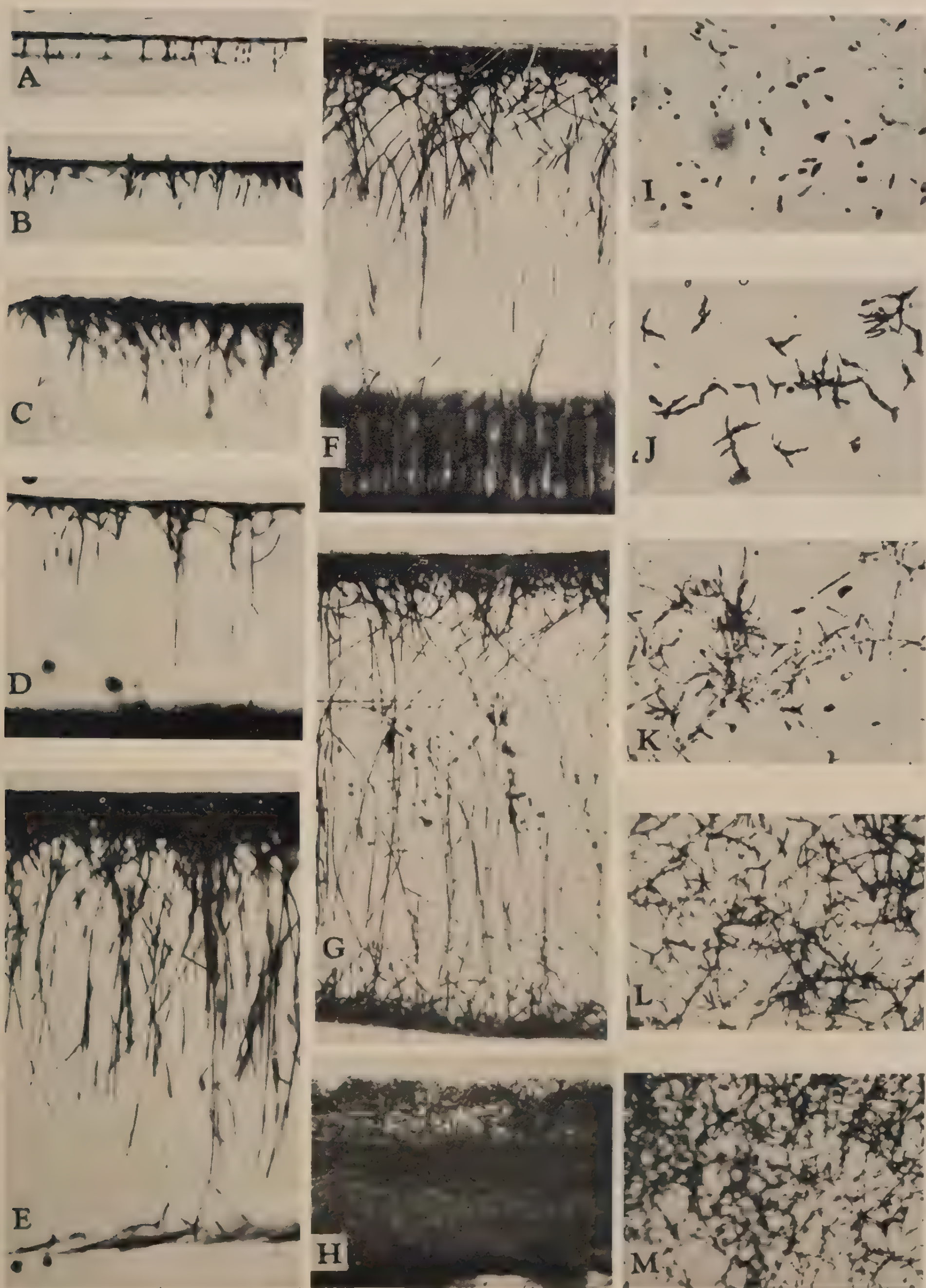
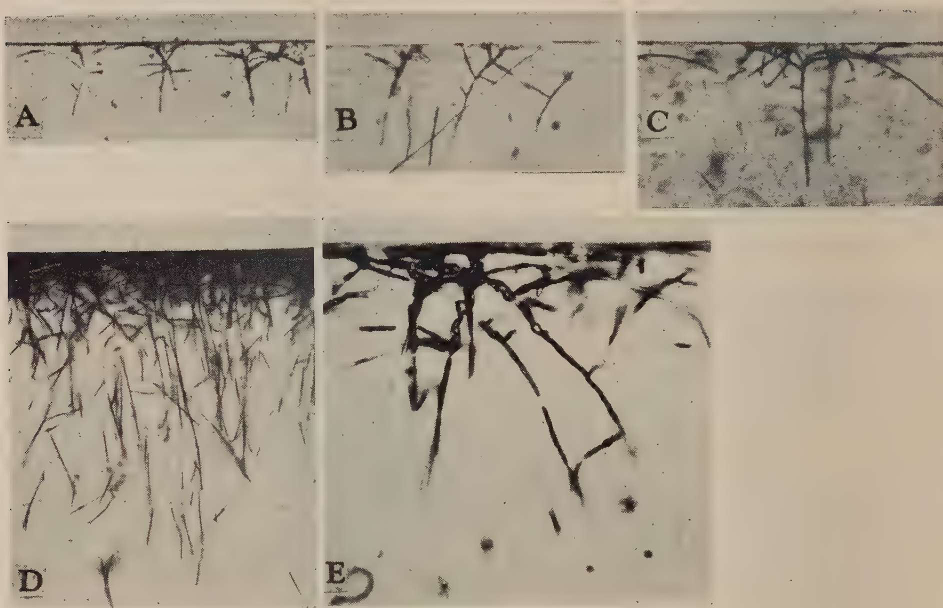


Plate II. Details of perforating growth and branching in early stages.



食品の鮮度測定法に関する研究—X.

太田氏のヒスタミン定量法の誤差について*

津田 厚・森 健児・富山哲夫

(1959 年 5 月 19 日受理)

STUDIES ON THE METHOD FOR TESTING THE SPOILAGE OF FOOD—X. ERRORS INVOLVED IN OTA's METHOD FOR DETERMINATION OF HISTAMINE

Atsushi TSUDA, Kenji MORI and Tetuo TOMIYAMA**

The chemical estimate of fish freshness is not always in accord with the organoleptic observation. TOMIYAMA et al[1] showed that the histamine (Hm) content of sardine flesh ran parallel with the organoleptic grade. A prerequisite for the study on the applicability of this objective test to judge quality of mackerel is to devise an appropriate practical method for the determination.

OTA[4] reported a practical method in which he employed *p*-nitrobenzene diazonium ion (*p*-NBD) as diazotizing reagent and ethyl acetate as extractant of Hm azo-pigment. However, when Hm determination of mackerel flesh was made by this method in our laboratory, it was found that high Hm values were always obtained on fresh fish extract and that the absorption spectrum of the Hm azo-pigment from a pure Hm solution was different from that prepared from Hm in the presence of flesh extract.

The present paper deals with the improvement of the OTA's method by removing interfering substances with Amberlite IRA-400 (OH-form) and introducing nitrous acid treatment prior to diazotization. Data herein presented revealed that (1) a maximal formation of the Hm pigment occurs at a pH range of 9 to 9.5, (2) the determination is greatly interfered by the presence of various amino acids in flesh extract and mechanism of the interference involved is due to consumption of *p*-NBD by amino acids giving an orange pigment, and (3) the interfering substances can be eliminated by percolating a trichloracetic acid extract of sample flesh through Amberlite IRA-400 (OH-form) leaving Hm in effluent, histamine being adsorbed on Amberlite IRC-50 and eluted with 0.2N HCl, followed by the nitrous acid treatment and coupling with *p*-NBD.

魚肉の化学的な鮮度測定法として用いられている揮発性塩基や pH 等の値は官能検査と一致しない場合がしばしばある。特にサバ肉では官能検査によつて腐敗と認められないに拘らず Histamin (Hm と略記する) の生成が起つている場合がある。生きた動物の筋肉中の Hm は零あるいは痕跡であるから，約 1mg·% 以上存在した場合には，その筋肉は Hm 生成菌によつて汚染されていると見做されるであろう。富山等[1]はサバおよびウルメイワシの鮮度低下と筋肉の Hm 量とが平行することを明かにした。

鮮度判定法として Hm の値を用いるためには，Hm の簡易定量法を工夫する必要がある。従来用いられた bioassay 法[2]は不正確かつ繁雑であり，cotton acid succinate 法[3]は回収率が低い欠点がある。太田氏[4]は最近 Hm の簡易比色定量法を発表したので，著者等はサバ肉中の Hm の定量にこの方法を適用し

* 本研究の大要は 1959 年 4 月 3 日の日本水産学会年会（東京都）において発表した。

** 九州大学農学部水産化学教室 (Lab. Fish. Chem., Fac. Agr., Kyushu Univ., Fukuoka).

てみた。その結果ではサバ肉中にはこの定量法を阻害する物質が存在し，正確な Hm 値がえられないだけでなく，鮮度低下の初期に生ずる微量の Hm の定量は不可能であることを明かにしたので，それらの検討した結果を報告する。

研 究 結 果

1. 発色と pH との関係

魚肉抽出液中の Hm を太田氏法で発色すると，一定した色度および色調がえられなかつた。発色する時の pH の変動がその一因ではないかと想像して検討してみたところ，Fig. 1 に示すように pH 9 から 9.5 の間で発色度が最高，その前後では低下することが分つた。したがつて魚肉抽出液の場合にはヂアゾ化の前に pH 9 まで中和すべきである。

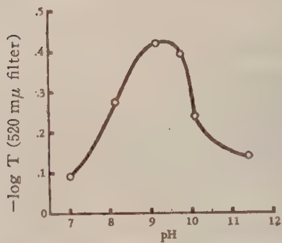


Fig. 1. Effect of pH upon formation of Hm azo-pigment.

また酢酸エチルに移した Hm 色素が赤紫色から赤橙色に褪色しやすいことをしばしば経験した。これは酢酸エチルが一部水解し pH を低下させたためと考え，アンモニヤを添加してみた。Table 1 から明かなように，これにより呈色度は約 9% 高くなり，吸収曲線は 540 mμ に鋭い極大を示すようになつた (Fig. 2)。また呈色も 10 分後では褪色せず，たとえ長時間放置して褪色したものもアンモニヤ添加で初めの呈色に回復した。

Table 1. The atability of histamine azo-pigment with and without addition of ammonia§

addition of ammonia		−log T at time of standing (min.) 0	10	20	30	60
*	no NH_3	.247	.240	.234	.232	
	+ NH_3	.270	.268	.260	.246	.238 (272†)
**	no NH_3	.265	.263	.260	.260	
	+ NH_3	.286	.285	.285	.282	

§ NH_3 was added to ethylacetate solution. * No nitrous acid treatment was made, i. e., original OTA's method. ** The nitrous acid treatment was applied prior to diazotization. † A value obtained on the second addition of NH_3.

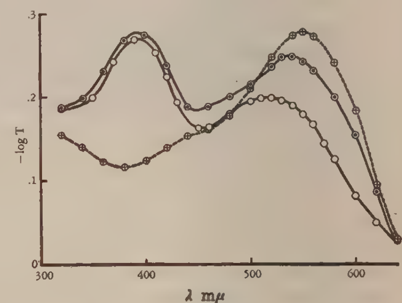


Fig. 2. Effect of addition of ammonia on absorption spectra of Hm azo-pigment. Hm azo-pigment, -○—○-; Hm azo-pigment with addition of NH_3, -⊙—⊙-; deaminized Hm azo-pigment with addition of NH_3, ·⊕··⊕·.

2. 魚肉抽出液の成分による定量の阻害

Hm を含まない新鮮なサバの肉抽出液，それに 50 mcg/cc になるように Hm を加えた液，および 50 mcg/cc の純 Hm 溶液を太田氏法で発色させると，Fig. 3 にみられるように抽出液中の Hm の発色は純 Hm の発色に比べて著るしく低く，それらの吸収曲線は 500 mμ 附近に吸収極大をもつているが，互に一致しない。Hm を含まないサバ肉抽出液では橙色の発色を示し，吸収曲線は 400 mμ 附近に極大があり，長波長側に長く裾を引いている。

このような定量を阻害する肉エキス成分はアミノ酸およびアンモニヤではないかと考え，モデルとして Alanin, Glutaminat および $(NH_4)_2SO_4$ の 0.1% 溶液に Na_2CO_3 のアルカリ性で *p*-Nitrobenzoldiazonium 試薬 (*p*-NBD と略記) を加えると，酢酸エチル可溶の橙色色素を生じ，Alanin および Glutaminat のアゾ色素は 400 mμ に，$(NH_4)_2SO_4$ のそれは 360 mμ に吸収極大をもち，いずれも長波長側に裾を引く吸収曲線を示した (Fig. 4)。

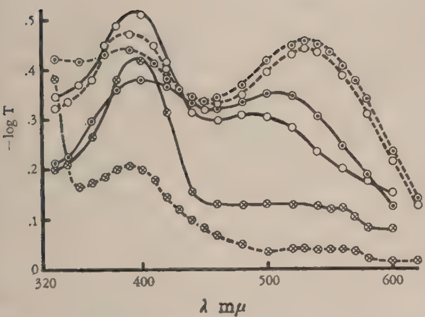


Fig. 3. Absorption spectra of Hm azo-pigments with and without HNO_2 treatment. The treatment of samples with HNO_2 was made prior to the color development. No treatment: Hm, 50 mcg/cc, -⊙—⊙-; flesh extract of mackerel plus Hm, 50 mcg/cc, -○—○-; flesh extract alone, -⊗—⊗-. Treated with HNO_2: Hm, 50 mcg/cc, -⊙—⊙-; flesh extract of mackerel plus Hm, 50 mcg/cc, ·○··○·; flesh extract alone, ·⊗··⊗·.

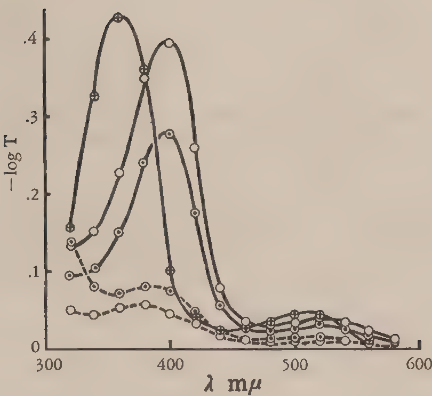


Fig. 4. Absorption spectra of pigments formed on addition of *p*-NBD to alanine, glutamic acid and ammonium sulfate, each concentration being 1 mg/cc. No treatment with HNO_2: alanine, -⊙—⊙-; glutamic acid, -○—○-; $(NH_4)_2SO_4$, -⊕—⊕-. Treated with HNO_2: alanine, ·⊙··⊙·; glutamic acid, ·○··○·.

3. 亜硝酸処理による定量阻害物質の除去

以上の検討から定量を阻害する原因の一部は供試抽出液中のアミノ酸であることが分つたので，*p*–NBD を加える前に N–HCl と 15% $NaNO_2$ をそれぞれ 0.5cc づつ加え，40°C に 5 分間反応させて脱アミノ化を行つてみた。その結果は肉抽出液に加えた Hm の呈色は同量の純 Hm の呈色とほぼ等しくなり，測定前にアンモニヤを加えない場合の λ_{max} は 530 mμ であり，両者とも一致した。他方，Hm を含まないサバ肉抽液を亜硝酸処理すると，400 mμ の吸収が著しく減少し，530 mμ 附近の吸光度も 40% 位に減少した (Fig. 3)。なお亜硝酸処理した Hm のアゾ色素の酢酸エチル溶液にアンモニヤを添加すると，呈色は 8% 増加し，λ_{max} は 550 mμ に移るので，阻害物質の影響を少くすることができた (Fig. 2)。

Hm, Histidin およびサバ肉抽出液を亜硝酸処理した場合に，ヂアゾ反応およびニンヒドリン反応がどのように変るかを沪紙クロマト法でブタノル: 酢酸: 水=4: 1: 1 により展開し，沪紙上で検出反応させて検索してみた。Hm および Histidin は亜硝酸処理によつてニンヒドリン反応陰性となるが，ヂアゾ反応は陽性で変らず，Rf 値はいずれも大きくなつている (Table 2)。Hm はこの処理によつて脱アミノ化されたことが明かである。Histidin およびサバ肉抽出液は亜硝酸処理によつて Hm と同じ Rf のスポットを与えなかつたことは注目される。なお Uracil, Thymin, Adenin, Guanin および Xanthin は亜硝酸処理後にヂアゾ化すと，いずれも赤色となるが，酢酸エチルには移行しなかつた。

Table 2. The paper chromatogram of histamine, histidine and mackerel flesh extract with and without nitrous acid treatment.

	no treatment			with treatment		
	histidine	flesh ext.	histamine	histidine	flesh ext.	histamine
ninhydrin reaction	+	+	+	−	−	−
diazo reaction	+	+	+	+	+	+
Rf	0.09	0.09	0.12	0.27	0.27	0.48

4. Amberlite IRA-400 による定量阻害物質の除去

Hm はかなり強い塩基性 (pk ≒ 4) をもつているから，アニオン交換樹脂には吸着されないはずである。

これを利用してアミノ酸類から分離することを試みた。すなわち Amberlite IRA-400 の OH 型 10 cc を詰めたカラムを上部におき，IRC-50 の H 型 2 cc を詰めたカラムを下部におき，肉の三塩化酢酸抽出液の 10 cc を上部のカラムに通し，排出液と洗液とを下部のカラムに通して Hm を IRC-50 に捕集し，最後に IRC-50 の層から 0.2 N HCl の 10 cc で Hm を溶出した。溶出液を濃縮し沪紙クロマトにかけて Hm の分離精製の程度を検討してみたところ，この溶出液には Histidin, Tyrosin その他のアミノ酸は全く検出されず，ヂアゾ反応陽性物質は Hm だけであつた。

Table 3. Comparison between histamine values obtained by some relevant methods and the improved methods.

Quality of mackerel muscle	histamine content (mg·%)			
	OTA's method	cotton acid succinate method	HNO_2-treated§	HNO_2-treated† Amberlite IRA-400,
Fresh	45	28	12	0.6
Putrid	136	—	71	64
do.	140	272	230	212

§ The nitrous acid treatment was applied prior to diazo-coupling procedure in the OTA's method. † The nitrous acid treatment was made on the effluent from Amberlite IRA-400 prior to the diazo-coupling according to the OTA's procedure.

新鮮なサバおよび腐敗したサバの肉抽出液を前記のようにイオン交換樹脂を用いて測定した値を太田氏法，その改良法および cotton acid succinate 法による値と比較した結果は Table 3 に示してある。Hm の少いサバ肉抽出液では，太田氏法が甚だ大きく，これに反し亜硝酸処理をした場合，イオン交換樹脂と亜硝酸処理とを併用した場合はいずれも小さい値を示した。イオン交換樹脂を通した場合の Hm の回収率は 100% に近かつたので，これを用いない方法の値はいずれも阻害物質の発色によつて過大となつたことが明かである。腐敗したサバ肉抽出液についての定量値は太田氏法値の方が小さく，亜硝酸処理のみの値およびこれとイオン交換樹脂とを併用した時の値はいずれも大きいが，この両者はかなりよく一致した。腐敗した肉抽出液では，多量のアミノ酸が *p*-NBD 試薬を消耗したことが太田氏法値を小さくした原因であろう。cotton acid succinate 法は試料の鮮度の如何を問わず，イオン交換樹脂を用いた時より高い値を示した。サバ肉抽出液から Hm をイオン交換樹脂で分離し，亜硝酸処理後に発色させ，アンモニヤを加えてから測定した Hm アゾ色素の吸収曲線は阻害物質による 400 mμ の吸収が著しく小さくなり，また純 Hm を亜硝酸処理後発色させた吸収曲線と完全に一致した (Fig. 5)。

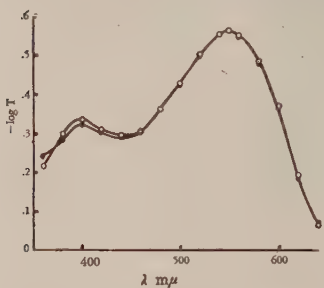


Fig. 5. Absorption spectra of diazotized Hm with or without presence of mackerel flesh extract. Hm, 40 mcg/cc, -○—○-; Hm, 40 mcg/cc plus flesh extract, -●—●-. Before coupling of Hm with *p*-NBD was made, the interfering substances were removed with Amberlite IRA-400, followed by treating with HNO_2.

5. Hm と *p*-NBD との反応比

PAULY[5)6)] は Histidin の Imidazol 核に 2 分子の *p*-Sulfobenzoldiazonium 塩が附加することを報告している。著者等はサバ肉抽出液が *p*-NBD を消耗することを知つたので，Hm と *p*-NBD との反応モル比について研究した。Hm のアミノ基を除くために予め亜硝酸処理を施した Hm の 0∼5.44 micromol/cc の液を作り，その各 1 cc づつをとり 7.1 micromol/cc (0.1%) の *p*-NBD の 1 cc に加えて反応させ，発色が最大になる濃度を求めた。Fig. 6 にみられるように，発色は Hm の 3.4 micromol で最大となつた。すなわち脱アミノ Hm の 1 mol と *p*-NBD の 2 mol が couple したことになる。Hm が 3.4 micromol 以上になると，Hm と *p*-NBD とが 1 mol づつ反応した生成物が混合する筈である。この 1: 1 の反応比の色素は 400 mμ に極大をもつ赤橙色であることは Fig. 7 に示されている。アミノ酸の多い肉抽出液を太田氏法で発色させたものには，Hm: *p*-NBD = 1: 1 の生成物の呈色が明かに認められるので，原法では試薬が不足していると断定できる。

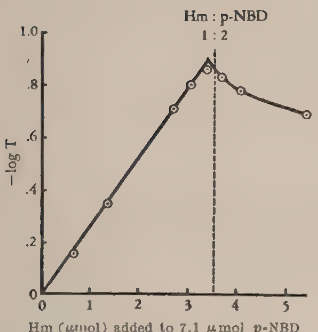


Fig. 6. Change in absorbance at 550 mμ with varying mol ratios between Hm and *p*-NBD. The pigments formed are measured after 1 : 10 dilution of ethyl acetate extract.

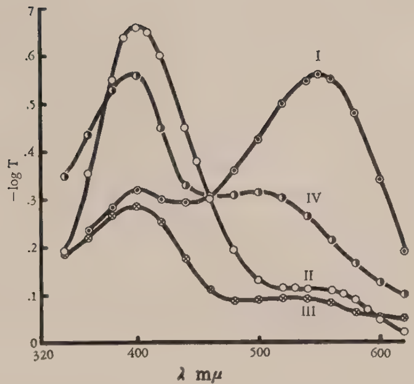


Fig. 7. Absorption spectra of two Hm pigments. I: product from 1 mol Hm and 2 mols *p*-NBD. II: product from 1 mol Hm and 1 mol *p*-NBD. III: fresh flesh extract alone treated according to OTA's procedure. IV: fresh flesh extract plus Hm treated according to OTA's procedure. Shortage of *p*-NBD apparently occurred in OTA's procedure.

考　　　察

本研究の結果から解析すると，太田氏法における誤差の原因はつぎの4つに分類できる。(1) ヂアゾ化の時の pH の調整が不充分なこと，(2) ヂアゾ化した後に酢酸エチルに移した色素の呈色が一定しないこと，(3) 肉抽出液中に *p*-NBD を消耗する成分があつて，*p*-NBD が反応に不足する傾向にあること，(4) 肉抽出液中に *p*-NBD と反応して橙色を生じ，これが Hm のアゾ色素の吸収 550 mμ に影響すること。

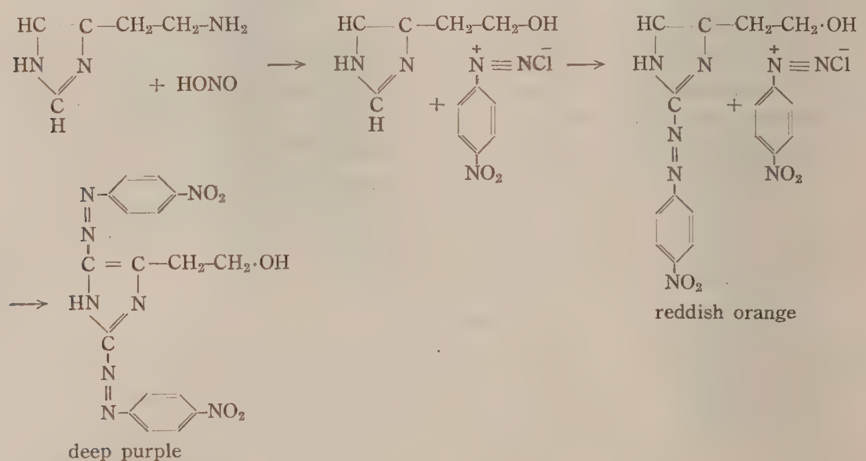
これらの欠点のうち (1) の pH に最適がある理由については，恐らく pH が高すぎると Diazonium ion が Diazohydroxid となつて反応性を失い，逆に pH が低いと Imidazol 核の N に H^+ が入つて反応し難くなるためであろう[7)8)]。この誤差はヂアゾ化の前に抽出液の pH を 9 に調整すれば容易に取除くことができる。(2) の誤差も濃アンモニヤの少量を添加することで解決できる。したがつて定量法の改良の重要点は (3) および (4) である。

(3) の誤差はサバや赤色肉の場合に著明にみられるもので，この種の肉は 1000 mg% 前後の Histidin を含んでおり[9)]，1 mol Histidin は 2 mol *p*-NBD と反応するので[5)6)]，*p*-NBD の消耗は著しい。試薬が消耗すれば Hm: *p*-NBD=1: 2 とならないために，Hm の多い組織では過少となる (Table 3)。*p*-NBD は Hm や Histidin とだけでなく，一般にアミノ酸類と反応する。ZAHN 氏等[10)]の研究によると，Histidin は赤，Tyrosin は赤褐色，Cystin は褐色の色素をつくり，Prolin, Oxyprolin および Cystein はいづれも白色の化合物をつくるが，他の大部分のアミノ酸では黄色の副反応生成物をつくる。すなわち Diazonium ion がアミノ酸を脱アミノ化してオキシ酸にかえ，試薬自身は Diazoaminobenzol の誘導体となり黄色を呈する。このことから考えると *p*-NBD 試薬の場合には 4, 4′-Dinitrodiazoaminobenzol が生成したと推察される。

新鮮なサバ肉抽出液をヂアゾ化した場合の吸収曲線はアミノ酸と *p*-NBD との反応生成物の吸収曲線ときわめて近似している (Figs. 3 および 4)。それゆえに Fig. 3 にみられるように新鮮なサバ肉抽出液をヂアゾ化したものの吸収帯の頂が 530 mμ にかかつて過大値を与えるのは (Table 3)，明かに肉抽出液中のアミ

ノ酸に原因しているに違いない。これが (4) の誤差に外ならない。

かように (3) および (4) の誤差は主としてアミノ酸に原因するものであるから，アミノ酸が *p*–NBD と反応しないように予め変化させるか，あるいは肉抽出液の Hm を混在するアミノ酸から分別して後に *p*–NBD と反応させるか，いずれかの方法を講ずれば，アミノ酸に基く誤差は除去しえられるはずである。まず肉抽出液中のアミノ酸を亜硝酸処理してオキシ酸とし，*p*–NBD と反応しないようにした結果は予想通りに誤差を減少させることに成功した。この処理で Tyrosin は黄色の 0–Nitrosotyrosin となり[11)]，ヂアゾ反応は起さない。同様に Tyramin の場合にも亜硝酸処理によつて発色が防がれるものと思われる。他方，Hm の場合にも Imidazol 核がニトロソ化するのではないかと疑われる。しかし CUSMANO・DIDONNA 両氏[12)]の研究からみてその可能性は考えられないし，また LIEBERMAN の nitrosamine 反応を試みたところ陰性であつたので，Hm のニトロソ化は否定できる。したがつて亜硝酸処理した Hm と *p*–NBD との反応比からみて，反応生成物はつぎの通りであろう。



上記のような亜硝酸処理を施しても (4) の誤差は完全には除去できない (Table 3)。したがつて微量の Hm の定量には Hm とアミノ酸とを分別せねばならない。本報では肉抽出液を Amberlite IRA–400 (OH 型) に通してアミノ酸を捕集し，Hm を通過させ，つぎに IRC–50 で Hm を捕捉することを試みて成功した。IRC–50 のみで Hm を捕捉し，アミノ酸を通過させることも可能であり，次報で詳細に報告する。かように分離した Hm は亜硝酸処理後に *p*–NBD と反応させると，550 mμ に吸収極大を有するアゾ色素を生成し，純 Hm を同様に処理したものの吸収曲線と完全に一致したので，Hm の完全な定量が実現できた訳である。

太田氏[4)]は同氏の方法による回収率が良好なことを報告している。しかし魚肉抽出液およびそれに Hm を添加したものはいずれも同量の阻害物質の発色を含むので，回収率には影響しない。したがつてこの場合には回収率のよいことは定量法の完全さを意味するものではない。

総　　括

Hm の定量値によつて魚肉の鮮度を知る目的で，太田氏の Hm 定量法を試みたところ，二，三の不備な点を認めたので，その原因について研究した。

1. Hm と *p*–NBD との発色反応の最適 pH は 9〜9.5 であつた。

2. Hm の定量を阻害する主な物質はアミノ酸である。Hm 量の多い魚肉抽出液の場合には，ヂアゾ化の前に亜硝酸処理を施せば，誤差は除かれる。

3. 酢酸エチルにとけた脱アミノ Hm アゾ色素の呈色度はアンモニヤの添加によつて約 8% 増加し，λ_{max} は 550 mμ に移つた。

4. 定量阻害物質の大部分は魚肉の三塩化酢酸抽出液から Amberlite IRA-400 (OH 型) に吸着される。Hm はこれに吸着されないが，Amberlite IRC-50 (H 型) に吸着される。

本研究には日本レダリー KK の援助をえた。ここに特記して謝意を表する。

文　　献

1) 富山哲夫・黒木俊一・野村　稔：本誌，**21**，958 (1955). 富山哲夫・黒木俊一・前田伝喜・浜田盛治・本田　彰：本誌，**22**，120 (1956).
2) R. M. GESLER and M. MATSUBA: *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **114**, 151 (1955).
3) 門田　元・井上淳太郎：本誌，**19**，916 (1953).
4) 太田冬雄：本誌，**24**，41 (1959).
5) H. PAULY: *Z. physiol. Chem.*, **42**, 508 (1904).
6) H. PAULY: *ibid.*, **94**, 284 (1915).
7) H. ZOLLINGER: *Helv. Chem. Acta*, **36**, 1723 (1953).
8) C. WITTMAR und H. ZOLLINGER: *ibid.*, **37**, 1954 (1954).
9) 日引重幸・清水　亘：本誌，**24**，916 (1959).
10) H. ZAHN, B. WOLLEMANN, und O. WASCHKA: *Z. physiol. Chem.*, **294**, 100 (1954).
11) S. L. PHILPOT and P. A. SMALL: *Biochem. J.* **32**, 542 (1938).
12) S. CUSMANO et G. DIDONNA: *Gazz. chim. ital.*, **85**, 208 (1955).

水産物乾製品の褐変

小泉千秋・黒部宗市・野中順三九

(1959年5月22日受理)

ON THE BROWNING OF DRIED FISH PRODUCTS

Chiaki Koizumi, Sōichi Kurobe and Junsaku Nonaka*

The principal factor inducing the browning of dried fish products during their storage may be attributable to the so-called rusting of fish oil, but it can not be overlooked the browning of fish meat itself.

About the browning of fish meat itself, many researchers are the same in opinion that it is attributable to the Maillard reaction in which reducing sugars, such as ribose, and nitrogenous components in the meat are involved. The authors, however, suppose that insofar as dried fish products are concerned the carbonyl compounds formed through autoxidation of oil is possible to play an important role in the browning.

In this point of view the authors made an experiment on the browning of fish meat using several aldehyde (Table 1), ribose and flat-fish muscle protein, freed from reducing sugars and nitrogenous extractives, and confirmed that crotonaldehyde and acetaldehyde both are usual constituents of an autoxidized fish oil and truly enhance the browning, while ribose shows no influence under the same experimental conditions.

水産物乾製品を貯蔵しておくと，いわゆる油焼けを起して褐変し，外観を著るしく劣化する。この際製品は脂肪の部分が赤褐色化するばかりでなく魚肉そのものも褐変する。この魚肉部分の褐変の原因としては，まず第一に魚肉蛋白およびエキス成分と魚肉中に含まれている還元糖とによるアミノ・カルボニール反応が考えられるが，この外に油脂の自働酸化によつて生成したカルボニール化合物と魚肉蛋白およびエキス成分との間に起る褐変反応も考慮する必要があると思われる。

この予想を確めるために精製した魚肉蛋白と数種のアルデヒードを使用して褐変のモデル実験を行ない，魚油中の高度不飽和脂肪酸の自動酸化生成物として知られているアセトアルデヒードとクロトンアルデヒードが極めて微量でも魚肉蛋白を速やかに褐変することを確めた。

実　　験

I) 試　料

a) 魚肉蛋白の調製: ヒシメの肉を肉挽器にかけ，乳鉢で播潰し，多量のアセトンを加えて2時間浸漬後，吸引沪過して魚肉を分取する。このアセトン浸漬吸引沪過の操作を3回繰返して充分に脱脂，脱水した後，さらにクロロフォルムとメタノールの等量混合溶液に浸漬し，アセトンの場合と同様に吸引沪過の操作を2回繰返し可溶性成分を除去する。この魚肉を減圧乾燥した後，乳鉢で磨砕し，インチ当り 40 のメッシュを通過したものを試料魚肉蛋白とした。その一般成分は粗脂肪: 0.0％，粗蛋白: 84.7%，水分: 15.3%，灰分: 2.5% であつた。なお試料魚肉蛋白は 70% メタノールで加熱抽出後，吸引沪過し，その沪液の濃縮物についてニンヒドリンによる呈色反応を行なつて遊離アミノ酸の存在しないことを確かめ，また別に熱水抽出し吸引沪過した沪液の濃縮物について銀鏡反応，Ost 法，Molish Uránsky 法等の定性反応を行ない，還元糖の存在しないことを確めた。

---

* 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish., 6-Shibakaigandori, Minato-ku, Tokyo).

b) アルデヒードおよびリボース： アルデヒードは約 0.6 mole のメタノール溶液として用い，魚肉蛋白に対する濃度は Table 1 に示す通りである。リボースは水溶液として用い魚肉蛋白に対する濃度は 1850，925，463 mg·% とし防腐剤として少量のクロロフォルムを用いた。

Table 1. Distillation temperature of sample aldehydes, melting point of their 2, 4-dinitrophenylhydrazones and applied concentrations.

Aldehyde	Distil. temp. (°C)	M. P. of 2,4-DNPH (°C)	Concentration (mole/g.)
formaldehyde	—	167.5～168.0	0.011
acetaldehyde	20.0～21.0	—	0.0085
propionaldehyde	—	157.0	0.012
n-butylaldehyde	74.0	—	0.012
capronaldehyde	—	107.0～107.5	0.0073
enanthaldehyde	—	106.0	0.010
caprylaldehyde	—	106.5～107.0	0.0075
peralgonaldehyde	—	102.5～103.0	0.0085
caprinaldehyde	—	107.5	0.011
crotonaldehyde	—	190.0	0.010

II) 実験方法

試料魚肉蛋白の 0.3g を小瓶に秤取し約 0.6 mole の供試アルデヒードのメタノール溶液 5 *ml* を加え密栓し，充分に混和後 29±1°C の恒温器中に放置した。放置後1日，4日，12日目にこのメタノール溶液中の魚肉蛋白を吸引沪過してメタノールと分離し，室温でメタノールを揮散させた後，できるだけ試料魚肉蛋白の表面をたいらにして可視部の各波長の光線に対する反射率をベックマン分光々度計で測定して褐変の程度を比較した。

結果および考察

試料魚肉蛋白がアルデヒードの作用によつて褐変する場合，その色調は大低，白色から黄色，黄褐色を経て次第に褐色へと変化するようである。しかしアルデヒードの作用が非常に強力な場合には白色から直ちに褐色に変化する。このように魚肉蛋白の褐変の度合は，その褐色の強弱でなく，黄色から黄褐色，さらに褐色へというような色調の変化であるから褐変度をある特定の可視部の波長の光線の反射率を以つて表示することができないので 380～820 mμ の波長域の光線の反射率曲線を以つて表わした。すなわち結果は Fig. 1～11 に示す通りであり，褐色度の著るしいもの程反射率は小さくなつている。

フォルムアルデヒードでは魚肉蛋白は 12 日後に至つても全く変色しなかつたが，アセトアルデヒードとクロトンアルデヒードは著るしく褐変した (Fig. 1, 2, 10)。

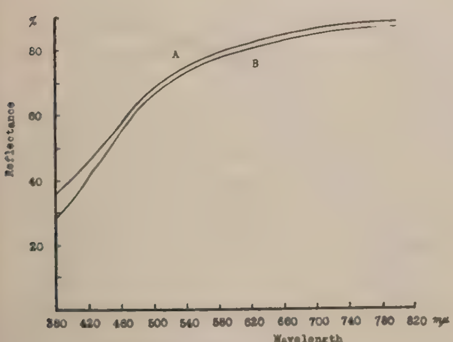


Fig. 1. Spectral reflectance of fish protein (flat-fish) treated with formaldehyde.
A: control, B: after 1, 4 and 12 day (s).

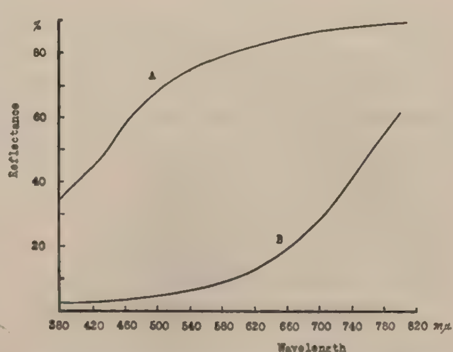


Fig. 2. Spectral reflectance of fish protein (flat-fish) treated with acetaldehyde.
A: control, B: after 1, 4 and 12 day (s).

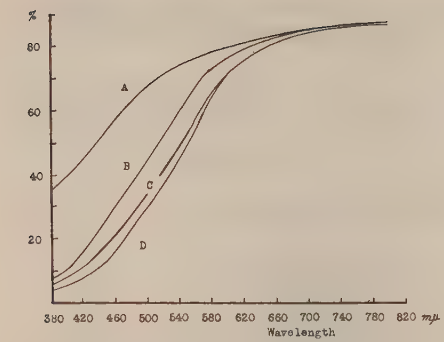


Fig. 3. Spectral reflectance of fish protein (flat-fish) treated with propional dehyde. A: control, B: after a day, C: after 4 days, D: after 12 days.

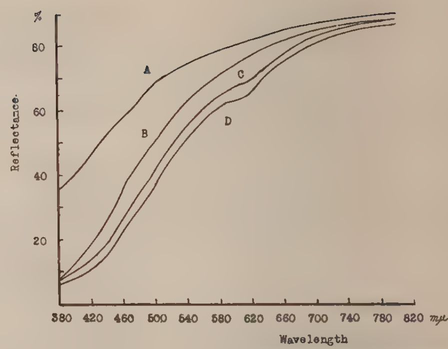


Fig. 4. Spectral reflectance of fish protein (flat-fish) treated with n–butylaldehyde. A: control, B: after a day, C: after 4 days, D: after 12 days.

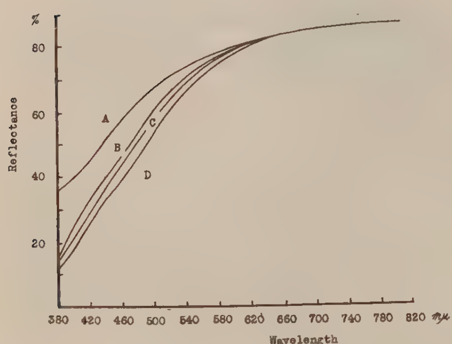


Fig. 5. Spectral reflectance of fish protein (flat-fish) treated with capronaldehyde. A: control, B: after a day, C: after 4 days, D: after 12 days.

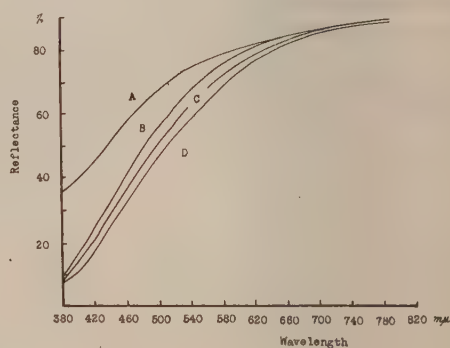


Fig. 6. Spectral reflectance of fish protein (flat-fish) treated with enanthaldehyde. A: control, B: after a day, C: after 4 days, D: after 12 days.

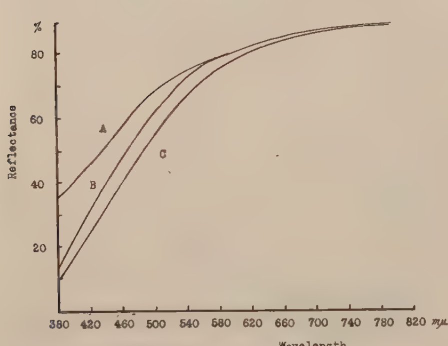


Fig. 7. Spectral reflectance of fish protein (flat-fish) treated with caprylaldehyde. A: control, B: after a day, C: after 4 and 12 days.

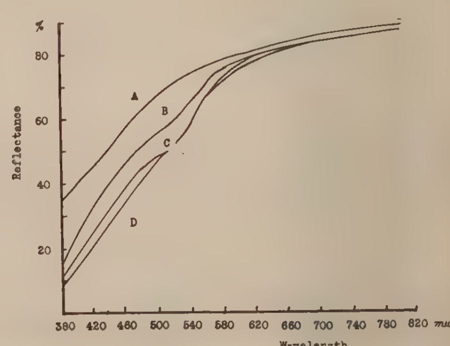


Fig. 8. Spectral reflectance of fish protein (flat-fish) treated with peralgonaldehyde. A: control, B: after a day, C: after 4 days, D: after 12 days.

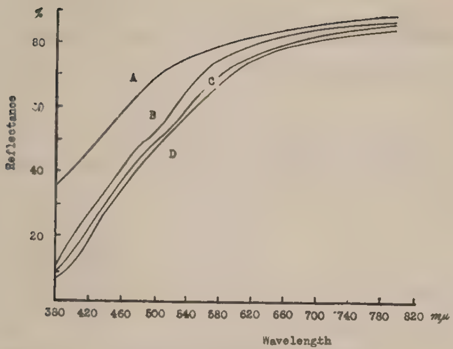


Fig. 9. Spectral reflectance of fish protein (flat-fish) treated with caprinaldehyde. A: control, B: after a day, C: after 4 days, D: after 12 days.

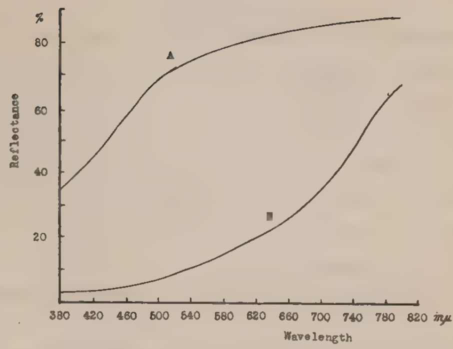


Fig. 10. Spectral reflectance of fish protein (flat-fish) treated with crotonaldehyde. A: control, B: after 1, 4 and 12 day (s).

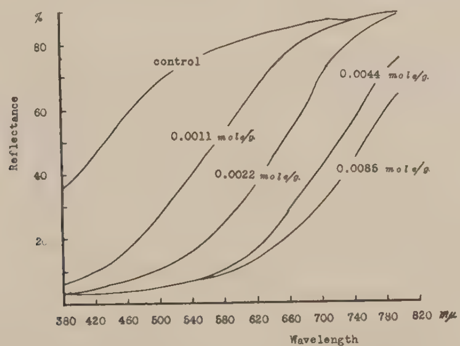


Fig. 11. Spectral reflectance of fish protein (flat-fish) treated with acetaldehyde in various concentrations.

アセトアルデヒードやクロトンアルデヒードを魚肉蛋白に添加すると，1時間後にはすでに強い褐色を呈し，1 日後に測定した反射率は 4 日，12 日後に測定したそれと全く変わらなかつた。このようにアセトアルデヒードとクロトンアルデヒードが速やかに魚肉蛋白を褐変したので，アセトアルデヒードの濃度を 0.0011, 0.0022, 0.0044 mole/g. に減じ 29 ± 1°C に 1 日放置後魚肉蛋白の反射率を測定し，その結果を Fig. 11 に示したが，アセトアルデヒードの濃度が 0.0011 mole/g. ではその色調は黄色であつたが，0.0022 mole/g. 以上になると明らかに褐変した。クロトンアルデヒードはアセトアルデヒードと同じように約 0.01 mole/g. で魚肉蛋白を速やかに褐変しているから，クロトンアルデヒードでもアセトアルデヒードの場合と同様に 0.0022 mole/g. 位の低濃度でも充分に褐変するものと考えられる。

フォルムアルデヒード，アセトアルデヒード，クロトンアルデヒード以外の供試アルデヒードの場合には 1 日，4 日，12 日と放置日数とともに次第に魚肉蛋白の色調は黄色の度を増したが 12 日後に至つても褐色にはならなかつた (Fig. 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9)。

魚肉蛋白のかわりにアルミナを用い，アセトアルデヒードとクロトンアルデヒードについて魚肉蛋白の場合と同様の実験を行なつたが，アルミナでは全く変色を起さないから魚肉蛋白の場合の変色がアミノ・カルボニール反応に基づくものであることは確実である。

供試アルデヒードによる魚肉蛋白の褐変と還元糖によるとそれを比較するためアルデヒードの場合と同一実験条件のもとで，還元糖としてリボースを用い，その濃度を魚肉蛋白に対して 1850，925，463 mg·% で作用させたが最高濃度の 1850 mg·% でも褐変しなかつた。すなわちこの実験条件ではリボースはエキス成分を除いた魚肉蛋白には作用しないものと思われる。

このようにアセトアルデヒードやクロトンアルデヒードが室温に近い温度で，極めて微量で，速やかに魚肉蛋白を褐変し，これに対してリボースは同一実験条件では非常に高濃度でも褐変を起さなかつたことから水産食品，特に乾製品等の褐変に油脂の酸化分解生成物であるアセトアルデヒードやクロトンアルデヒードが大きな役割を演じていることは明らかである。

なお油脂の酸化分解生成物中には多くの不飽和のカルボニール化合物が存在するが，これら不飽和カルボニール化合物の魚肉の褐変におよぼす影響については後日報告する。

本研究の研究費の一部は文部省試験研究費によつたここに記して謝意を表する。

漁獲直後の処理法が肉質変化におよぼす影響の研究—I.
殺し方および貯蔵法が鮮度保持効果におよぼす影響

土屋靖彦・佐藤善夫・鈴木芳夫・中野智夫
工藤英郎・佐々木劭・村瀬昌彦・山添健一

(1959 年 5 月 26 日受理)

STUDIES ON THE INFLUENCE OF TREATMENTS IMMEDIATELY AFTER CATCHING UPON THE QUALITY OF FISH FLESH.—I.
EXAMINATIONS ON KILLING AND STORING METHODS FOR KEEPING QUALITY OF MACKEREL, DACE AND CARP.

Yasuhiko Tsuchiya, Yoshio Sato, Yoshio Suzuki, Tomoo Nakano,
Hidero Kudo, Takashi Sasaki, Masahiko Murase and Kenichi Yamazoi*

The authors examined on the killing and storing methods for keeping quality of fish meat using mackerel, *Scomber japonicus*, dace, *Leuciscus haknensis* and carp, *Cyprinus carpio*. The freshness of fish was criticized by the estimation of volatile basic–N, trimethylamine–N, pH and firmness of flesh and by organoleptic tests.

The results obtained are summarized in Tables 1, 2, 3 and 4.

For the killing methods as seen in Tables 1 and 4, it was the best of all that fish were stunned by a blow on the head, decapitated and eviscerated, while the round fish which had been killed by being left alone in the air after catching were always the worst. However, the killing method such as cutting tail and bleeding or stabbing in the medulla of neck was not so good as the authors expected, because of its taking long time till death in the former and its technical difficulty in the latter.

Viewing from the storing conditions employed, the method immersing fish in ice-saline water containing 1% NaCl and 0.01% butyrated hydroxy anisole was the best of all. Then it was followed by the methods of immersing in ice-saline water containing 1% NaCl or ice-water and of icing with a mixture of 1% NaCl. However the fish solely kept in crushed ice was always the worst.

緒　　言

われわれは魚の肉質が死後の時間経過とともに低下していくのを，できるだけ防ごうとして，漁獲後から水揚げまでの魚の取扱い方法について，改めて根本的に研究をして見ることにした。

1947 年カナダの H. L. A. Tarr 等によつて抗生物質特に C. T. C. が魚肉の鮮度保持に効果のあることが見出され[1]，また実際の漁業に応用して卓効のあることが立証された[2]。一方わが国でも富山はイワシ等について[3]，また著者はサンマについて抗生物質の効果の研究を行なつたが[4]，このように多獲魚の鮮度保持に関する研究の多くは従来殺菌剤などの使用による研究が多く，それ以前の問題すなわち，魚の殺の方や処理法および貯蔵法についての基本的研究の吟味が甚だ不充分である。例えば貯蔵法についてはカナダの A. W. Lanty[5] や Tarr 等[2] によつてトロール漁で漁獲後魚体を冷却海水中に保持すると保ちが良いことが認められているが，わが国で現実に行なわれている砕氷法，水氷法，塩水氷法等についての優劣は未だ明確

* 東北大学農学部 (Lab. Marine Food Tech., Fac. Agr., Tohoku Univ.)

Table 1. Tests of mackerel treated

Storing methods	No.	Storage time (days) / Killing methods	Volatile basic N (mg·%)						Trimethylamine–N			
			0	1	2	3	5	8	0	1	2	3
Control air temperature (16～20°C)	1	Leaving in the air	8.21	22.54	31.04	43.43			0.00	1.18	6.56	11.49
	2	Stabbing in medulla	8.01	16.82	23.29	41.21			0.00	1.08		12.22
	3	Stunning by a blow on the head and dressing	8.08	18.72	25.26	36.73			0.00	0.69	1.87	6.41
	4	Cutting tail and bleeding	8.21	20.37	27.04	40.01			0.00	1.57	5.01	10.94
		Mean	8.13	19.61	26.66	40.35			0.00	1.13	4.48	10.27
Crushed ice	5	Leaving in the air		20.37	25.33	23.65	24.18	28.12		0.49	1.08	1.08
	6	Stabbing in medulla		17.61	21.97	23.45	23.72	27.07		0.30	0.91	0.89
	7	Stunning by a blow on the head and dressing		18.33	22.83	24.83	23.72	23.65		0.00	0.89	0.89
	8	Cutting tail and bleeding		20.83	24.54	27.46	29.63	29.89		0.69	0.99	1.12
		Mean		19.29	23.67	24.85	25.31	27.18		0.39	0.97	1.00
Crushed ice with 1% sodium chloride	9	Leaving in the air		15.57	21.85	21.75	24.18	31.86		0.79	0.91	0.89
	10	Stabbing in medulla		19.58	22.83	22.40	23.72	29.43		0.59	1.06	1.05
	11	Stunning by a blow on the head and dressing		14.06	21.98	23.52	23.85	28.19		0.68	0.89	1.08
	12	Cutting tail and bleeding		16.10	21.39	22.86	24.96	30.88		0.49	0.89	0.89
		Mean		16.33	22.01	22.63	24.18	30.09		0.64	0.94	0.98
Ice-water	13	Leaving in the air		14.72	17.54	19.05	22.93	24.77		0.69	0.93	1.05
	14	Stabbing in medulla		15.44	21.17	22.80	23.19	29,43		0.73	0.89	0.89
	15	Stunning by a blow on the head and dressing		17.94	20.33	24.64	25.03	27.59		0.67	0.89	1.05
	16	Cutting tail and bleeding		16.88	22.83	23.32	23.65	29.24		0.63	0.79	0.89
		Mean		16.25	20.47	22.45	23.70	27.76		0.68	0.88	0.97
Ice-water containing 1% sodium chloride	17	Leaving ih the air		15.70	22.31	23.52	24.24	27.07		0.59	1.01	0.79
	18	Stabbing in medulla		14.78	20.47	24.11	24.57	25.62		0.39	1.06	0.89
	19	Stunning by a blow on the head and dressing		18.52	20.53	22.80	23.52	24.44			0.89	0.93
	20	Cutting tail and bleeding		15.31	22.17	33.65	25.03	29.89		0.39	0.99	0.89
		Mean		16.08	21.37	23.52	24.34	26.76		0.46	0.99	0.88
Ice-water containing 1% sodium chloride and 0.01% B. H. A.	21	Leaving in the air		15.24	20.40	22.20	22.60	24.44		0.34	1.08	0.89
	22	Stabbing in medulla		13.80	19.02	22.14	22.53	23.78		0.00	0.79	0.86
	23	Stunning by a blow on the head and dressing		13.80	20.93	21.62	22.01	24.50		0.00	0.69	0.79
	24	Cutting tail and bleeding		15.24	21.46	22.14	22.54	25.43		0.00	0.45	0.79
		Mean		14.52	20.45	22.03	22.42	24.54		0.09	0.75	0.83

な研究結果が出されていない状態である。

まず本報では，ホンサバ *Scomber japonicus*, ウグイ *Leuciscus haknensis* およびコイ *Cyprinus carpio* の活魚を用いて半実用的規模において魚を処理し，貯蔵法および殺の方の違いによる鮮度保持効果の研究を行なつた結果について報告する。なお本研究費の一部は農林漁業応用試験研究費によつて賄われたもので，ここに記して謝意を表する。

with various killing methods.

(mg·%)		pH						Organoleptic observation				
5	8	0	1	2	3	5	8	1 day	2 days	3 days	5 days	8 days
		5.93	5.79	6.23	6.52			Surface noticeably fading. Odor fresh.	Odor strongly fishy.	Flesh very soft. Increase in slime. Odor stale.		
		6.30	5.55	5.89	6.35							
		6.75	5.85	5.83	6.10							
		5.89	5.65	6.09	6.50							
		6.22	5.71	6.01	6.37							
3.31	3.35		5.52	5.72	5.90	5.83	6.12	Surface slightly fading. Odor fresh.	Surface fading.		All groups except No. 7, 11, 15, 19 and 23; Flesh soft. Surface fading and slimy. Odor strongly fishy. No. 7, 11, 15, 19 and 23 were comparatively good.	All groups; Flesh very soft. Odor stale.
3.35	3.29		5.51	5.85	5.78	5.72	6.10					
3.11	2.79		5.69	5.70	5.72	5.92	5.98					
2.76	3.19		5.47	5.73	5.57	5.85	5.88					
3.13	3.16		5.55	5.75	5.74	5.83	6.02					
2.86	3.37		5.75	5.65	5.70	5.75	6.10	Surface very good. Odor fresh.	Surface good.			
2.76	2.96		5.80	5.97	5.72	5.78	6.05					
2.76	2.76		5.50	5.83	5.90	6.09	5.87					
2.86	3.11		5.40	5.54	5.87	5.82	5.94					
2.81	3.04		5.61	5.75	5.80	5.86	5.99					
2.92	3.35		5.84	5.65	5.72	6.08	5.82	Surface slightly fading. Odor fresh.	Surface fading.			
3.11	3.94		5.83	6.00	5.90	5.85	5.75					
3.15	3.31		5.55	5.99	6.02	5.80	5.70					
3.43	4.64		5.62	5.93	5.40	6.01	5.85					
3.15	3.81		5.71	5.89	5.76	5.94	5.78					
3.15	4.14		5.75	5.86	5.65	6.05	5.67	Surface good. Odor fresh.	Surface slightly fading.			
3.37	3.55		5.68	5.82	5.60	5.91	5.73					
2.96	4.53		5.55	5.80	5.90	6.06	5.99					
3.49	4.34		6.02	5.89	5.81	6.01	5.97					
3.24	4.14		5.75	5.84	5.74	6.01	5.84					
3.45	3.11		5.89	5.81	5.74	5.80	6.03	Surface very good. Odor fresh.	Surface slightly fading.			
3.06	3.29		5.52	5.63	5.70	5.09	6.00					
2.89	2.62		5.81	5.73	5.85	5.92	6.11					
3.15	3.11		5.89	5.82	5.89	6.03	6.02					
3.44	3.08		5.78	5.75	5.80	5.71	6.04					

実験材料並びに実験方法

魚の殺し方については自然死，延髄刺殺，頭部切断死（内臓も除く）および尾部切断死の4通りを行ない，貯蔵法としてはつぎの6通りを行なつた。すなわち，(1) トロ函に無処理の状態で放置し，時々撒水する方法，(2) 魚体をトロ函内の砕氷間に常時保持されるようにする方法（砕氷法），(3) この時寒剤として食塩を少量併用してなるべく低温に魚を保持する場合（塩氷法），(4) 槽内の水氷中に魚を保持する場合（水氷法），(5) 同じくこの時約1%濃度の食塩を混用する場合（塩水氷法）および (6) この塩水氷にさらに 0.01%

Table 2. Tests of dace treated

Storage time (days) / Storing methods	Volatile basic-N (mg·%)				Trimethylamine-N (mg·%)			
	1	4	6	7	1	4	6	7
Stored at air temperature (10°C)	8.48	19.51	21.35		0.24	0.28	0.53	
Crushed ice	4.66	11.43	14.05	18.72				0.59
Crushed ice with 1% sodium chloride	5.12	11.30	13.99	17.48	0.08	0.12	0.20	0.20
Ice-water	6.83	10.97	14.86		0.10	0.18	0.34	
Ice-water containing 1% sodium chloride	4.73	11.10	13.67	14.85		0.08	0.26	0.34

Amounts of venesection

	Tail cutting			Head cutting		
Body length (cm.)	25	25.5		31.8	27.7	27
Body weight (g.)	210	220		450	250	250
Amounts of venesection (cc.)	4.3	3.7		6.5	3.2	3

程度の抗酸化剤 B. H. A. を併用する場合の6通りである。

つぎに肉質判定法としては，硝子電極使用による pH の測定，田内式硬度計使用による硬度の測定および揮発性塩基窒素並びにトリメチルアミン窒素の測定を行ない，併せて五感判定を行なつた。

使用した試料については体長，体重，体温を測定し，コイについては断頭または尾部切断などによる瀉血量を測定した。なおまた試料採取地，試験期日などは以下のごとくである。

試料	サバ	ウグイ	コイ
試料採取地	宮城県女川湾	宮城県松島湾	仙台養鯉場
試験期日	32年11月初旬	32年12月初旬	33年1月下旬
平均体長	18.2cm	28.9cm	29.3cm
平均体重	69.5g	431g	656g
生簀水温	16°C	6.5°C	12°C
魚体温	16.2°C	7°C	12.6°C

実験結果および考察

以上3つの実験の結果をまとめると Table 1 から Table 4 のごとくである。

(A) 貯蔵法の違いによる鮮度保持効果について

揮発性塩基窒素の量からみると，まずサバについては全貯蔵期間を通じ B. H. A. 塩水氷法が最も良好な効果を示し，砕氷法が効果が低かつた。それに対し，塩氷，水氷，塩水氷の各法間には差が明瞭でない。ウグイについては塩水氷法が良く，水氷法が悪い。なおサバ，ウグイの両実験で塩氷法の効果が余り明瞭に現われていないが，これは塩氷によつてよく冷却される魚体とそうでない部分が生じた結果，魚体が不均等に冷却されるためであろう (Table 1〜2)。

with various storing methods.

pH				Organoleptic observation			
1	4	6	7	2 days	4 days	6 days	7 days
6.62	6.65	6.62		Flesh soft. Surface fading. Odor strongly fishy.	Flesh very soft. Odor stale.		
6.58	6.70	6.93	6.40	Flesh slightly soft. Surface slightly fading.		Surface fading. Odor strongly fishy	Surface noticeably fading. Odor stale.
6.75	6.49	6.75	6.38	Flesh soft. Surface fading.	Surface fading. Odor fresh.		
6.72	6.68	6.72		Flesh firm. Surface slightly fading.		Flesh very soft. Surface noticeably fading. Odor stale.	
6.77	6.79	6.84	6.12	Flesh firm. Surface very good.	Surface good. Odor fresh.	Surface good. Odor fresh.	Surface slightly fading. Odor stale

T. M. A.–N 量から考察すると，サバでは貯蔵の初期に B. H. A. 塩水氷法の効果が著るしく，後期では塩氷法が良く，全期間を通じて B. H. A. 塩水氷法，塩氷法が優れている。ウグイの場合にも塩氷が良く砕氷が悪い (Table 1～2)。

魚類の pH は従来生時 7.0 あるいはそれより多少アルカリ側にあるが，死後自己消化による乳酸の生成並びに有機燐酸の分解による燐酸の遊離等により酸性側に傾き次第に pH 値が減少し 6.0 附近に達し，後腐敗とともに上昇するものとされている。しかし今般のサバの実験 (Table 1) では非常に不規則な値を示し，しかも揮発性塩基窒素量，T. M. A.–N 量から考えるとﾞすでに完全に腐敗の状態にあると考えられる室温放置 3 日後もなお 6.37 の値を示している。さらにこのことは 7 日，8 日後の値についても観察されて，サバの場合は pH 値によつて鮮度保持効果を調査することについては決定的な値がえられなかつた。これは魚種の差による特殊な肉質によるものか，あるいは他の原因によるものかなお検討を要する。一方，ウグイの pH については塩氷法が鮮度保持効果が良いように思われる (Table 2)。

つぎに魚肉の硬度については，魚肉を室温に置くと低温に保蔵した場合より早く硬直し，その持続時間も短かく腐敗が早い。一般に腐敗作用は硬直状態の終るころからはじまると考えられているので，できるだけ硬直に入る時期をのばし，その持続時間を長くする程鮮度保持効果が良好である訳であるが，このような観点からすると，ウグイでは塩水氷法，水氷法が他に比して良好である (Table 3)。

以上の結果と五感判定を綜合すると貯蔵法については B. H. A. 塩水氷法が良く，砕氷法が劣ることはほぼ確かといえる。塩氷法，塩水氷法もある程度効果があるが，魚種によりまた鮮度判定法により異なつた値がえられて，明瞭な結論がえられない。

(B) 殺し方の違いによる鮮度保持効果について

殺し方による鮮度保持効果については，揮発性塩基窒素，T. M. A.–N，pH はサバで，硬度はコイについて実験を行なつた。

揮発性塩基窒素量では断頭死が良く，尾部切断死が不良である (Table 1)。T. M. A.–N 量では同じく断頭死が良好であるが，延髄刺殺，自然死，尾部切断死の間に差はみられない (Table 1)。pH については延髄刺殺が良い結果が得られた (Table 1)。硬度は Table 4 にみられるように明らかに断頭死が良く，尾部切断死が悪い。

以上の結果から殺し方については断頭死（同時に内臓除去）が最も良く，尾部切断死が不適当であると判断された。延髄刺殺の方法は苦悶が少なく消耗が少ないから良い結果を得るが，実際には即殺に技術を要するので多獲魚に対しては実施できない。せいぜい，やや大型の高級魚にのみに用いられる方法と考える。

Table 3. Firmness of dace meat treated with various storing methods.

Storing methods	Body length (cm.)	Body weight (g.) \ Storage time (hrs.)	Firmness						
			0	2	$6^1/_4$	24	32	47	$53^1/_2$
Stored at air temperature (10°C)	30.5	440	28	42	30	68			
	31.6	420	31	47	38	38	50	38	38
	26.0	240	25	44	37	60	50	46	46
	30.8	4000	14	43	30	52	40	36	36
	27.2	320	30		35	60	56	40	40
Mean	29.2	364	26	43	34	56	49	40	40
Crushed ice	32.7	560	32	32	36	50	56	53	44
	26.1	250	28	38	30	40	50	38	38
	30.8	540	35	35	32	60			
	25.6	280	42	42	37	54	58	55	40
	30.5	440	32	32	34	38	57	57	45
Mean	29.4	414	35	36	33	48	55	51	42
Crushed ice with 1% sodium chloride	25.3	280	42	42	42	46	43	38	38
	28.8	380	38	42	36	52	52	45	45
	25.8	240	45	45	37	56	54	54	42
	25.7	260	46	46	30	52			
	34.0	560	31	31	28	46	46	46	40
Mean	27.9	344	40	41	35	50	50	46	41
Ice-water	30.8	580	28	35	35	48	53	50	45
	25.5	260	40	33	30	50			
	26.2	380	38	28	35	70	50	50	40
	32.4	500	25	27	30	43	54	54	48
	33.2	528	28	24	26	36	40	40	38
Mean	29.6	450	32	29	31	49	50	48	43
Ice-water containing 1% sodium chloride	25.3	260	35	35	40	56	56	56	35
	32.6	560	37	37	40	45	45	48	45
	24.0	240	45	33	38	55	40	40	36
	29.8	400	33	33	36	43			
	31.5	460	45	30	39	42	45	48	38
Mean	28.6	384	39	34	39	48	47	48	39

(C) そ の 他

断頭と尾部切断の方法による瀉血量をウグイの場合は Table 2, コイについては Table 4 に記載した。結果は尾部切断の方が体重に対し 1.5～1.7% でほぼ一定値をえたが，断頭の方は約 1.1% から 2.0% で巾があり，恐らく鰓に残る血液量がその時々で違つたためと思われる。

五感判定として観察された点で注目すべきことは室温に放置した魚が貯蔵前と比較して体重に変化のないにも拘わらず砕氷法と水氷法では吸水して水膨れの状態を呈し，体重が増し，かつ漂白される傾きがあるが，一方塩氷法と塩水氷法では脱水されて体重が減少し，色沢が良好であると認められた。

要　　約

試料としてサバ，ウグイおよびコイを使用して，貯蔵法の違いによる鮮度保持効果および殺し方の違いによる同じく鮮度保持効果の良否を半実用的規模において研究し，つぎの結果をえた。

1)　貯蔵法については砕氷法，塩氷法，水氷法，塩水氷法および塩水氷に抗酸化剤併用の五方法について

Table 4. Tests of carp treated with various killing methods.

Storing methods	Killing methods	No.	Body length (cm.)	Body weight (g.)	Amount of venesection (cc.) \ Storage time (hrs.)	Firmness 0	22	28	46 1/2	52	70	Organoleotic observation 2 days	3 days	4 days
Stored at air temperature (15~16°C)	Stunning by a blow on the head and dressing	1	29.8	666	6.1	36	54	43	37			Flesh very soft. Increase in slime. Odor stale.		
		2	30.1	688	11.0	39	42	44	37					
		3	29.6	556	5.1	24	56	51	37					
	Mean		29.8	636	7.4	33	51	46	37					
	Cutting tail and bleeding	4	29.5	700	11.9	36	56	45	36					
		5	31.5	864	7.9	35	46	31	31					
		6	31.3	562	11.6	36	55	40	36					
	Mean		30.8	709	10.5	36	52	39	34					
	Leaving in the air	7	29.0	626		34	56	44	36					
		8	30.5	650		37	50	37	34					
		9	29.5	660		37	55	36	35					
	Mean		29.7	645		36	54	39	35					
Ice-water	Stunning by a blow on the head and dressing	10	32.0	766	5.5	37	54	47	38	36	33	Surface slightly fading. Odor fresh.	Surface fading and slimy, Odor strongly fishy.	Surface noticeably fading. Increase in slime. Odor stale. No. 10, 11 and 12 were comparatively good.
		11	32.3	784	7.5	31	36	36	51	50	44			
		12	31.9	804	2.7	35	45	44	38	37	36			
	Mean		32.1	785	5.2	34	45	42	42	41	38			
	Cutting tail and bleeding	13	28.5	700	5.3	36	52	50	38	37	36			
		14	30.0	734	12.5	36	56	47	40	36	35			
		15	31.2	756	9.2	36	36	36	52	49	46			
	Mean		29.9	730	9.0	36	48	44	43	41	39			
	Leaving in the air	16	28.5	625		29	37	36	48	40	34			
		17	30.0	686		32	53	44	35	34	33			
	Mean		29.3	656		31	45	40	42	37	34			

比較した結果，砕氷法が最も劣り，水氷法とともに魚体が漂白され勝ちである。抗酸化剤併用の塩水氷法が最も良好であるが，水氷法，塩氷法，塩水氷法はそれぞれ一長一短があり，確定的な結果はえられなかつた。

2) 殺し方については自然死，断頭死(同時に内臓除去)，尾部切断死および延髄刺殺について行ない，断頭死が常に最も良好で，尾部切断死が自然死についで不良であつた。また延髄刺殺は予期した程の成果をおさめなかつたし，若干良好にしても余り大型でない多獲魚への応用は技術上困難と判じた。

文　　献

1) H. L. A. TARR and CO-WORKERS: *Prog. Rept. Pacific Coast St.* No. 83, **23**, (1950), No. 93, **35**, (1952).
2) H. L. A. TARR and CO-WORKERS: *Studies St. Fish. Res. Bd. Can.*, 404 (1955).
3) 富山哲夫他: 本誌, **21**, 958 (1955), **22**, 121 (1956).
4) 土屋靖彦・佐藤善夫: 冷凍, **31**, No. 344, 12 (1955).
5) A. W. LANTY: *Prog. Rept. Pacific Coast St.* No. 95, (1953).

漁獲直後の処理法が肉質変化におよぼす影響の研究—II. 貯蔵法および二三の処理法による鮮度保持法の比較

土屋靖彦・佐藤善夫・鈴木芳夫・工藤英郎
佐々木 劭・村瀬昌彦

(1959 年 5 月 26 日受理)

STUDIES ON THE INFLUENCE OF TREATMENTS IMMEDIATELY AFTER CATCHING UPON THE QUALITY OF FISH FLESH.—II. FURTHER EXAMINATIONS OF TREATMENTS ON KEEPING QUALITY OF FISH.

Yasuhiko TSUCHIYA, Yoshio SATO, Yoshio SUZUKI, Hidero KUDO, Takashi SASAKI and Masahiko MURASE*

This report deals with the results of further experiments to examine the effect of killing and storing methods for keeping freshness of mackerel. However measurements of *K* (1) and lanthanum-blue-reaction-value (2) were added to the methods for the determination of fish freshness which have been employed in the previous report.

The results are shown in Tables 1 and 2, and summarized as follows;

1) Among the three methods for which the authors could not find the difference in the effect of keeping the quality of fish flesh in the previous paper the immersion method in ice-water was worse than that of icing with 1% sodium chloride and of immersing ice-water containing 1% sodium chloride.

2) The appearance of dressed fish which had been sealed in polyethylene tube was good without any drying and oxidation, but the qualities were not always excellent in the other tests.

3) It was found less effective for keeping freshness when the fish had been frozen in brine (−10°C.) for 3 hours or in a refrigerating-chamber (−17°C.) for 5 hours before storage. It might be due to the fragility of tissue owing to the refrigeration.

4) The freshness of dressed fish which had been dipped in C. T. C.-sea water (20 p.p.m.) for 2 minutes, and sealed in polyethylene tube was the best of all treatments.

5) The quality of fish which had been narcotized in 1% urethane solution for 90 seconds after capture, was better than that of control in early stage of storage time.

緒　　言

さきに貯蔵法および殺し方の違いによる鮮度保持効果を検討したが，水氷法，塩氷法，塩水氷法については確定的な結果が得られなかつた。

本報はこれら貯蔵法についての効果を再吟味するとともに，魚体を断頭（同時に内臓除去）直後包装材で包み貯蔵した場合および断頭死後冷蔵庫若くはブライン浸漬により魚体を急速に冷却し貯蔵したときの効果を無処理の魚体と比較検討した結果について述べる。また併せ行つた C. T. C. 浸漬法についても報告し度い。さらに予備的ではあるが土屋，中野が多年に亘り研究を行つた魚の筋肉生理の研究結果から案出した麻酔剤処理[2]により魚を苦悶させないで殺す方法を行ない，その鮮度保持に影響する効果について調査した結

* 東北大学農学部 (Lab. Marine Food Tech., Fac. Agr., Tohoku Univ.)

Table 1. Volatile basic-nitrogen, lanthanum-blue-reaction

Storing methods	Treatments \ Storage time (days)	Volatile basic nitrogen (mg.)						Firmness*				
		0	1	3	5	8	11	0	24 (hrs.)	30 (hrs.)	47 (hrs.)	72 (hrs.)
Stored at air temperature (17~18°C)	Stunning by a blow on the head and dressing	16.25	16.90	32.50				54	37.0	34.5	21.0	
	Narcotizing in urethane solution (round fish)	14.95	17.55	31.85					36.5	32.5	18.5	
	Mean	15.60	17.23	32.17					37.0	34.0	19.0	
Ice-water	Stunning by a blow on the head and dressing		17.55	13.65	7.15	6.50			50.0	50.5	35.5	17.5
	Dressing and sealing in polyethylene tube		16.90	18.20	17.55	18.20	9.10		54.0	50.0	40.0	20.5
	Dressing and freezing in refrigerator		17.55	7.80	4.55	6.50			39.0	32.5	31.0	12.0
	Dressing, sealing and freezing in brine		19.50	17.55	16.25	17.55	15.60		33.0	31.0	26.0	
	Dressing and dipping in C.T.C. sea-water		15.60	19.50	13.65	12.35	18.20		53.5	47.0	38.5	18.0
	Narcotizing in urethane solution (round fish)		18.20	10.40	10.40	9.75			53.0	49.0	27.0	11.0
	Mean		17.55	14.51	11.53	11.61			47.0	44.0	33.0	
Ice-water containing 1% sodium chloride	Stunning by a blow on the head and dressing		16.90	15.60	13.65	9.75	3.25		48.5	34.5	25.5	16.5
	Dressing nad sealing in polyethylene tube		16.25	19.50	17.55	15.60	28.60		44.5	41.5	32.0	12.0
	Dressing and freezing in refrigerator		13.65	9.75	3.90	4.55	1.60		34.0	34.5	27.5	12.5
	Dressing, sealing and freezing in brine		14.95	16.90	18.20	16.25	15.60		32.5	29.5	25.5	
	Dressing and dipping in C.T.C. sea-water		16.25	18.85	17.55	18.20	9.75		45.5	40.0	35.0	14.0
	Narcotizing in urethane solution (round fish)		15.60	16.90	11.05	13.65	5.20		53.0	48.0	31.0	10.5
	Mean		15.60	16.25	13.65	13.00	10.67		43.0	38.0	29.0	
Crushed ice with 1% sodium chloride	Stunhing by a blow on the head and dressing		17.55	18.20	13.00	5.20	3.25		47.0	73.5	35.5	21.0
	Dressing and sealing in polyethylene tube		14.95	18.85	18.20	18.20	22.10		51.5	75.0	39.0	23.5
	Dressing and freezing in refrigerator		16.25	8.45	6.35	3.90	1.95		45.5	38.0	40.5	16.0
	Dressing, sealing and freezing in brine		16.90	18.85	18.20	22.75	19.50		37.5	20.0	19.0	9.0
	Dressing and dipping in C.T.C. sea-water		16.90	17.55	9.10	11.70	3.90		52.5	43.5	39.0	26.5
	Narcotizing in uretnane solution (round fish)		15.60	14.95	13.00	4.55	17.55		52.0	46.0	35.5	22.0
	Mean		16.36	16.14	12.98	11.05	11.38		48.0	49.0	35.0	20.0

* Value of firmness is measured by Tauti's firmness-tester.

** Lanthanum-blue-reaction value is expressed as the amount of extract for inhibiting lantha-

*** K is determined by the following formula: $K = \frac{B}{A}$

where A is total optical density at 250 mμ of perchloric acid extract of meat and B is

value[4], K-value[3] and firmness of mackerel meat.

pH						Lanthanum-blue-reaction**						K***			
0	1	3	5	8	11	0	1	3	5	8	11	0	3	8	11
5.80	6.00	6.20				2.00	1.20	1.00	0.70			0.066	0.554		
6.00	5.90	6.21					1.20	0.90	0.70						
5.90	5.95	6.21					1.20	0.95	0.70						
	6.00	5.80	5.75	6.29			1.20	1.20	1.10	0.70			0.396	0.747	
	5.90	6.00	5.76	6.15	6.05		1.00	1.30	1.20	1.00	0.80				
	6.05	6.10	5.82	6.30			1.50	1.50	1.40	1.20	1.00				
	5.90	6.00	5.78	6.05	6.20		1.50	1.50	1.50	1.20	1.10				
	5.70	6.02	6.00	6.15	6.18		1.40	1.40	1.30	1.10	0.90				
	5.80	6.10	5.87	6.45			1.20	1.20	1.20	1.00	0.80				
	5.89	6.00	5.83	6.23			1.30	1.35	1.28	1.03					
	6.10	5.80	5.65	6.00	6.29		1.20	1.30	1.20	1.00	0.90		0.235	0.585	0.908
	6.00	6.03	5.95	6.08	6.13		1.20	1.20	1.20	1.10	0.90				
	6.00	6.05	5.90	6.20	6.20		1.50	1.50	1.40	1.20	1.20				
	5.90	5.81	5.85	6.20	6.15		1.30	1.30	1.30	1.10	1.10				
	6.00	6.10	5.82	6.03	6.20		1.50	1.50	1.50	1.30	1.20				
	5.90	5.80	5.70	6.02	6.20		1.30	1.30	1.20	1.00	0.60				
	5.98	5.93	5.81	6.09	6.19		1.33	1.35	1.30	1.12	1.07				
	6.10	5.75	5.91	6.10	6.28		1.20	1.40	1.10	0.90	0.80		0.105	0.513	0.817
	6.00	5.93	5.80	6.15	6.05		1.50	1.70	1.50	1.20	1.00				
	5.90	5.83	5.88	6.28	6.30		1.50	1.60	1.40	1.10	1.10				
	6.00	5.89	6.00	6.18	6.20		1.80	1.80	1.60	1.20	1.00				
	5.90	5.90	5.79	6.25	6.30		1.20	1.30	1.20	1.00	0.90				
	5.90	5.80	5.80	6.32	6.10		1.40	1.40	1.30	1.20	1.00				
	5.97	5.85	5.86	6.21	6.21		1.43	1.53	1.37	1.10	1.97				

num-blue-reaction.

optical density at the same wavelength of inosine and hypoxanthine fraction.

果も報告する。

なお本研究費の一部は農林漁業応用試験研究費により支弁された。また C. T. C. は日本レダリー株式会社より寄贈された。記して謝意を表する。

実験材料および実験方法

宮城県女川湾桐ヶ崎の定置網で漁獲されたサバ *Scomber japonicus*, 平均体長 20.8 cm, 平均体重 101g., 魚体温 18.5°C を生簀（水温 17.5°C）に入れ使用した。試験期日は 33 年 10 月上旬である。

魚の殺し方は前報[1] で好結果をえた頭部切断死（同時に内臓除去）を大部分の試料として行ない，一部の試料についてのみ 1% ウレタン溶液に 90 秒浸漬し麻酔させたものを使つた。

殺した魚はつぎの 6 通りの処理を行つた。control として，(1) 無処理のままのもの，(2) 長さ 30 cm, 厚さ 5/100 mm, 幅 8 cm のポリエチレン袋に入れて結ぶ方法，(3) 包装しないでそのまま −17°C の冷蔵庫で 5 時間空気凍結する方法，(4) 包装して −10°C のブライン中に 3 時間浸漬凍結する方法，(5) 20 p.p.m. の C. T. C. 溶液に 2 分間浸漬させる方法および (6) 前記麻酔魚の 6 通りである。

このように処理した魚はそれぞれ (1) 室温に放置し適宜撒水する方法，(2) 水氷法，(3) 塩水氷法（食塩約 1%）および (4) 塩氷法に分けて貯蔵をした。麻酔魚は頭部内臓を含み包装しないで貯蔵し，C. T. C. 処理魚は水氷および塩水氷に保蔵した魚体は包装し，塩氷保蔵魚はトロ函の一部を区切つて貯蔵した。

肉質判定法としては揮発性塩基窒素の定量，硝子電極使用による pH の測定，田内式硬度計使用による硬度の測定，酸溶性核酸成分定量による K 値の測定[3]，lanthanum blue 反応阻害度による判定[4]および五感判定を行つた。試料は 3 尾の脊肉の普通肉を homogenate して使用し， 硬度は 2 尾の測定値を平均した。なお鮮度の判定は以上の各判定の結果を綜合して行つた。

実験結果および考察

実験の結果を Table 1 および Table 2 にまとめた。Table 1 は揮発性塩基窒素，pH，硬度，酸溶性核酸成分定量による K 値および lanthanum blue 反応阻害度の測定結果で， Table 2 は五感判定の結果を記した。

(A) 水氷法，塩水氷法，塩氷法の優劣について

水氷，塩水氷等 0°C 付近の温度に保蔵したものは室温に放置したものより 3∼5 日鮮度が良好で前報同様魚体を 0°C 付近の温度に保つ方法が望ましいことが判明した。 しかし揮発性塩基窒素量は貯蔵日数が経過するにしたがい包装しない魚体は鮮度の低下を示すに拘らず，値が増加せずに減少している。この傾向は凍結魚において著しくそのため肉質の判定に困難をきたした (Table 1)。

一方包装魚はその値が鮮度低下とともに増加している事実からみて，包装しない魚体は，氷や水を毎日多量に交換したため揮発性塩基窒素が水中に溶出，流出する結果このような現象がでたものと考えられた。包装魚について各判定法により比較すると貯蔵の初期には差はないが長期になると水氷貯蔵魚は外観が悪くなり，塩水氷，塩氷貯蔵魚より鮮度が劣る (Table 2)。包装しない魚についても同様の傾向が認められる。塩氷法は氷の被覆がよければ塩水氷に優る好結果がえられる。

(B) 処理法による保存効果について

(a) 包装材使用の効果

包装魚は包装しない魚に比べて酸化， 乾燥が防止されて外観が秀れ臭いも良い。硬度も良好であるが，lanthanum blue 反応阻害度その他の判定法からするとやや劣るのが見られ，結局全体的に見て特に良好であるとはいゝ難い (Table 1∼2)。

(b) 死直後の凍結による効果

五感判定では凍結した試料は肉質が軟弱で漂白され外観が悪い。また他の判定法についても一定の傾向が

Table 2. Organoleptic change of mackerel meat.

Storing methods	Treatments \ Storage time (days)	1	2	3	4	5	8	9	10
Stored at air temperature (17~18°C)	Stunning by a blow on the head and dressing	1	3	4	5				
	Narcotizing in urethan solution (round fish)	1	3	4	5				
Ice-water	Stunning by a blow on the head and dressing	1	2	3	3	3	5		
	Dressing and sealing in polyethylene tube	1	1	2	3	3	3	4	5
	Dressing and freezing in refrigerator	1	2	2	3	3	5		
	Dressing, sealing and freezing in brine	2	3	3	4	4	5		
	Dressing and dipping in C.T.C. sea-water	1	1	2	3	3	3	4	5
	Narcotizing in urethan solution (round fish)	1	2	3	3	3	5		
Ice-water containing 1% sodium chloride	Stunning by a blow on the head and dressing	1	2	3	3	4	4	4	5
	Dressing and sealing in polyethylene tube	1	1	2	2	3	3	4	5
	Dressing and freezing in refrigerator	1	2	3	3	3	4	4	5
	Dressing, sealing and freezing in brine	2	3	3	4	4	4	5	5
	Dressing and dipping in C.T.C. sea-water	1	1	1	2	2	3	3	4
	Narcotizing in urethan solution (round fish)	1	2	2	3	3	4	4	5
Crushed ics with 1% sodium chloride	Stunning by a blow on the head and dressing	1	2	2	3	3	4	4	5
	Dressing and sealing in polyethylene tube	1	1	2	2	2	3	4	5
	Dressing and freezing in refrigerator	1	2	2	3	3	4	4	5
	Dressing, sealing and freezing in brine	2	3	3	4	4	4	5	5
	Dressing and dipping in C.T.C. sea-water	1	1	1	2	2	3	4	4
	Narcotizing in urethan solution (round fish)	1	2	2	3	3	4	4	5

Organoleptic observation has been expressed as follows;
1: Odor fresh. Surface brilliant. Flesh firm.
2: Odor fresh. Surface good. Flesh good.
3: Odor slightly fishy. Surface slightly fading. Flesh slightly soft.
4: Odor strongly fishy. Surface fading. Flesh soft.
5: Odor stale. Surface noticeably fading. Flesh very soft and not marketabl.

現れず，むしろ否定的な傾向が強い。これは冷却の時間が長過ぎたため魚体がかなり内部まで凍結し，そのため貯蔵中に解凍した組織が脆く腐敗し易い状態になつたものと考える。この点については改めて検討し直し度い (Table 1~2)。

(c) C. T. C. 浸漬法の効果

C. T. C. 処理をした魚特に C. T. C. 溶液に浸漬後包装した試料は，貯蔵のごく初期には目立つた効果は認められないが，長期間貯蔵しても新鮮さを失わないことが認められた。なおこれについては第 4 報に詳しく報告する予定である。しかし魚体の表皮が時に黄味をおこる傾向がみられるのは難点である (Table 1~2)。

(d) 麻酔剤使用の効果

ウレタン麻酔後貯蔵した魚は貯蔵初期には鮮度が非常に良い。しかし長期になると内臓を含むために内臓の腐敗とともに肉質が早く腐敗した (Table 1〜2)。 本法については第3報にも論ずるように，本来最も肉質をいためないで水揚げできる方法であるから詳細な研究をする予定であることをここに特に附言しておく。

(C) その他

魚肉中の酸溶性核酸成分の総量と inosine, hypoxanthine の合量との比，*K* 値による判定は五感判定とよく一致するが，測定に長期間を要し，かつ技術的にかなり熟練を要することのあるのが感じられた (Table 1)。

lanthanum blue 反応阻害度による判定は揮発性塩基窒素の結果とかなりよく一致した。

要　　約

1) 前報において確定的な結果がえられなかつた水氷法，塩水氷法，塩氷法の効果について再検討し水氷法が劣ることを明かにした。

2) 包装袋に魚を包装すると酸化乾燥が防止され外観がよいが，鮮度判定法からすると必ずしも常に良好とはいえなかつた。したがつて全体的にみて特に良好な方法とはいえない。

3) 冷却による効果は考えられるが，冷却が過ぎると魚の組織をいため却つて鮮度保持に悪影響を与える。

4) C.T.C. 処理は魚体を長期に保存する方法として秀れている。

5) 麻酔処理した魚は活魚に近い状態で保存されるが内臓を含むため今回の実験では長期の保存が効かない。

文　　献

1) 土屋靖彦他: 日本水産学会誌 **25**, 373 (1959).
2) 土屋靖彦・中野智夫: 昭和 33 年 4 月，日本水産学会で発表.
3) 斎藤恒行・新井健一: 日本水産学会誌 **24**, 749 (1959).
4) 鈴木たね子: 西海区水産研究所研究報告第9号

魚獲直後の処理法が肉質変化におよぼす影響の研究—III.
二三の処理法による鮮度保持効果

土屋靖彦・佐藤善夫・鈴木芳夫・中野智夫
工藤英郎・佐々木 劭

(1959 年 5 月 26 日受理)

STUDIES ON THE INFLUENCE OF TREATMENTS IMMEDIATELY AFTER CATCHING UPON THE QUALITY OF FISH FLESH.—III.
EFFECT OF SEVERAL TREATMENTS ON KEEPING QUALITY OF BASS MEAT.

Yasuhiko Tsuchiya, Yoshio Sato, Yoshio Suzuki, Tomo Nakano, Hidero Kudo and Takashi Sasaki*

The authors studied on the effects of the treatments on keeping quality of bass, *Lateolabrax japonicus.*

The results are shown in Tables 1 and 2, and summarized as follows;

1) The appearance of dressed fish which had been sealed in polyethylene tube was excellent in early stage of storage with regards dehydration and oxidation, but the freshness was not always good after long storage time.

2) There is no remarkable difference between the freshness of fish which had been precooled by dipping in brine (−19°C.) for 10 minutes or by leaving in a cooler (−10°C.) for 2 hours. This may be due to the destruction of frozen tissue owing to over cooling. Therefore, it was unsuccessful to determine a condition of pre-cooling fish.

3) The quality of fish which had been narcotized in 1% urethane solution for 90 seconds after capture was the most excellent of all treatments.

緒 言

前報において包装材，麻酔剤使用等の処理法による保存効果を研究したが，その際水氷貯蔵魚で鮮度が低下しているにも拘わらず揮発性塩基窒素が減少するのが見られ，その判定に困難を来たした。よつて本報では前記処理法の効果を 0°C の冷蔵庫に貯蔵したものと比較再検討した。また一部塩水氷法についても実験を行なつたのでその結果を報告する。

実験材料および実験方法

魚の殺し方は前報同様，頭部切断死（同時に内臓除去）およびウレタン麻酔死を行ない，麻酔魚の一部は内臓および頭部を除いて貯蔵した。

殺した試料についてつぎの 7 通りの処理法を行なつた。すなわち，(1) 対照として断頭（内臓除去）した魚を無処理のまま貯蔵する方法，(2) 厚さ 7/100 mm のポリエチレン袋に包装する方法，(3) 包装魚をドライアイスを小分けして入れたパック中で 2 時間冷却する方法，(4) 包装しない魚を同様に冷却する方法，(5) 包装魚を −19°C のブライン中で 10 分間浸漬冷却する方法および (6) 前記のウレタン麻酔（1% 溶液に

* 東北大学農学部 (Lab. Marine Food Tech., Fac. Agr., Tohoku Univ.)

Table 1. Volatile basic nitrogen, pH,

Storing methods	Storage time (days) / Treatments	Volatile basic nitrogen (mg.) 0	2	5	7	9	13	20	24	0 (hr.)	3.5 (hrs.)	11.3 (hrs.)
Stored at air temperature (10～11°C)	Stunning by a blow on the head and dressing	13.00	10.40	27.30	53.30	62.40				32	33	37
	Dressing and sealing in polyethylene tube		14.30	29.90	46.80	72.80					34	37
	Narcotizing in urethan solution and dressing		11.05	20.15	35.10	72.80					33	52
	Narcotizing in urethane solution (round fish)		11.70	18.85	27.30	47.45					32	52
	Mean		11.86	24.05	40.63	63.86					33	45
Refrigerator (0°C)	Stunning by a blow on the head and dressing		9.75	13.65		13.65		18.20	31.20		36	50
	Dressing and sealing in polyethylene tube		9.10	13.00		14.95		41.60			34	37
	Dressing, sealing and cooling in cooler		10.40	13.65		14.30		24.05	49.40			79
	Dressing and cooling in cooler		10.40	13.65		15.60		21.45	27.95			56
	Dressing, sealing and cooling in brine		9.75	12.35		14.30		35.10			33	52
	Narcotizing in urethane solution and dressing		9.75	11.70		13.65		16.25	29.90		35	49
	Narcotizing in urethane solution (round fish)		9.75	12.35		12.36		15.60	20.15		36	56
	Mean		9.84	12.91		14.11		24.61			35	54
Ice-water containing 1% sodium chloride	Dressing, sealing and cooling in cooler		7.15	11.70		12.35	15.60	31.85				48
	Dressing and cooling in cooler		8.45	7.80		6.50	9.75	3.25				47
	Mean		7.80	9.75		9.43	12.68	27.55				48

* Value of firmness is measured by Tauti's firmness tester.

** K is determined by the following formula: $K=\frac{B}{A}$

where A is total optical density at 250 mμ of perchloric acid extract of meat and B is

2分間浸漬）魚の頭部および内臓を除く方法と（7）そのまま貯蔵する方法，以上7通りである。

処理した試料は室温に放置する方法，塩水氷法，0°C 冷蔵庫に貯蔵する方法に分けて貯蔵した。

肉質判定は揮発性塩基窒素，pH，硬度，前報で用いた K 値および五感判定を綜合して行ない，試料は3尾の脊肉を homogenate して使用した。なお硬度については，脊鰭先端下側線上方で測定し，4～6 尾の平均値を求めた。

用いた試料セイゴは宮城県松島湾の簀立で漁獲されたもので，それを同地水族館の水槽に移し，実験に供した。（平均体長 19.2 cm，平均体重 100.8 g.，魚体温 9.0°C，水温 8.4°C，試験期日　昭和 33 年 11 月下旬）

実験結果および考察

結果を Table 1, 2 に示す。

(A) 塩水氷貯蔵魚と 0°C 冷蔵庫内貯蔵魚の比較

同じ処理をした試料については塩水氷貯蔵法と 0°C 冷蔵庫貯蔵法についてみると，室温に放置した魚よ

K-value and firmness of bass meat.

Firmness*						pH								K**			
21.5 (hrs.)	34 (hrs.)	46.5 (hrs.)	59 (hrs.)	76 (hrs.)	100 (hrs.)	0	2	5	7	9	13	20	24	0	2	5	20
66	70	58	45	37	31	6.95	6.48	6.90	6.97	7.01				0.005	0.177	0.686	
64	67	54	40	32	22		6.54	6.80	6.93	7.12							
68	74	62	46	38	34		6.23	6.64	6.88	7.37							
72	71	56	49	37	33		6.30	6.54	6.81	7.13							
68	71	58	45	36	30		6.39	6.72	6.90	7.16							
68	70	65	59	56	37		6.61	6.61		6.89		6.90	7.05		0.091	0.368	0.595
65	69	60	62	42	33		6.59	6.66		6.80		7.16					
68	68	65	57	48	34		6.67	6.65		6.69		7.10	7.39				
73	80	73	65	56	37		6.62	6.67		6.73		7.00	7.07				
60	68	56	58	44	31		6.78	6.68		6.71		7.39			0.063	0.285	0.416
68	74	70	63	56	40		6.55	6.61		6.72		7.00	7.11		0.070	0.183	0.340
70	80	73	65	56	46		6.57	6.70		6.80		7.01	6.93				
67	73	66	61	51	37		6.63	6.65		6.76		7.08					
62	64	53	50	36	24		6.42	6.67		6.73	6.67	7.10					
60	66	56	51	37	30		6.53	6.68		6.67	6.60	6.73					
61	65	55	51	37	27		6.48	6.88		6.70	6.64	6.92					

optical density at the same wavelength of inosine and hypoxanthine fraction.

り 11 日以上保ちがよく，ほとんど同様の保存効果を示した。しかし詳細に見ると塩水氷貯蔵魚は初期には 0°C 貯蔵魚よりはむしろ良好で，また 0°C 冷蔵庫貯蔵魚は貯蔵が長びくにつれ乾燥が激しくなるのが見られる (Table 1, 2)。

塩水氷貯蔵の包装魚および 0°C 冷蔵庫貯蔵魚は揮発性塩基窒素量が漸次増加するが，塩水氷貯蔵の非包装魚は逆に減少する。これは前報サバの実験と全く同様の傾向である。この事実から塩水氷貯蔵の非包装魚の揮発性塩基窒素量が鮮度低下とともに減少する原因の一端は少なくともそれが水中に溶出して行くためと考えることができる (Table 1, 2)。

(B) 包装の効果

pH 値の結果では包装魚と非包装魚の効果の違いは明らかでない。硬度は包装魚の方が劣り，揮発性塩基窒素量については 0°C 冷蔵庫貯蔵魚では包装しない魚体が良いが，塩水氷貯蔵の包装魚は短かい期間では良好で，期間が長びくと悪くなる。五感検査によると外観ははじめは包装魚が良いが，やはり長期になると色が微赤色をおびて悪化し発臭も早い。

結局包装魚は貯蔵の初期には酸化乾燥が防止されて鮮度が良いが，長期間貯蔵すると嫌気的腐敗により悪

Table 2. Organoleptic change of bass meat.

Storing methods	Treatments \ Storage time (days)	1	2	3	4	5	6	7	9	12	13	15	17	20	24
		Organoleptic observation													
Stored at air temperature (10～11°C)	Stunning by a blow on the head and dressing	1	1	2	3	4	4	5							
	Dressing and sealing in polyethylene tube	1	1	2	3	4	4	5							
	Narcotizing in urethan solution and dressing	1	1	2	3	3	4	5							
	Narcotizing in urethan solution (round fish)	1	1	2	3	3	4	5							
Refrigerator (0°C)	Stunning by a blow on the head and dressing	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	5
	Dressing and sealing in polyethylene tube	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	4	5	5
	Dressing, sealing and cooling in cooler	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	4	4	5
	Dressing and cooling in cooler	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	4
	Dressing, sealing and cooling in brine	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	4	4	5
	Narcotizing in urethan solution and dressing	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	4
	Narcotizing in urethan solution (round fish)	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	4
Ice-water containing 1% sodium chloride	Dressing, sealing and cooling in cooler	1	1	1	1	1	1	1	2	3	3	3	3	4	5
	Dressing and cooling in cooler	1	1	1	1	2	2	2	3	3	4	4	4	4	5

Organoleptic observation has been expressed as follows;
1: Odor fresh. Surface brilliant. Flesh firm.
2: Odor fresh. Surface good. Flesh good.
3: Odor slightly fishy. Surface slightly fading. Flesh slightly soft.
4: Odor strongly fishy. Surface fading. Flesh soft.
5: Odor stale. Surface noticeably fading. Flesh very soft and not marketable.

化する可能性があり，全体的にみて現在のところ良い方法とはいい難い。しかしより低温に貯蔵した場合にはさらに明瞭な効果が期待しえるとも考えられる。しかしそうするためには今後嫌気的腐敗について検討を必要とする (Table 1, 2)。

(C) 冷却の効果

前報サバの実験では冷却時間が長過ぎて凍結過剰の状態になり好結果がえられなかつたので，本報では短時間試料を冷却して検討して見た。しかし今回も魚体の一部が凍結し冷却が不均一になつた。包装してドライアイスにより袋中で冷却した試料だけに効果が認められ，他はむしろ否定的な結果であつた。

これはやはり前報のサバの場合と同様にややもすると魚体を凍結し過ぎて，それが 0°C 附近で貯えると解凍され組織が脆弱化し，腐敗を早める結果となるものと考えられる。したがつて適当な冷却条件を決定することは意外に困難で，結局大型魚への応用は考えられるが，小型多獲魚にはこの方法は向かないものと判じた (Table 1, 2)。

(D) 麻酔剤使用の効果

室温に放置したもの，0°C 貯蔵魚のいずれにおいても全貯蔵期間を通じて麻酔処理した魚は非常に優れた鮮度を維持した。恐らくこのように麻酔した魚で断頭したものは苦悶しないで即殺され，また断頭（内臓除

去）処理をしないものは実際には麻酔された状態でかなり長時間生存する可能性がある訳で，当然保存も良好になる機会が多いことが考えられる。さらにこの研究を通して一旦麻酔した魚を，どうした状態におくとどれ位の時間までもとの活魚とすることができるか，さらにそれらを実際に多獲魚へ如何に応用するかなどの問題に今後の焦点が向けられなければならないが，いずれそれらについて遠からず報告する機会をもちたいと希つている (Table 1, 2)。

要　　約

前報サバを用いた麻酔剤，包装材料使用の効果および冷却による効果についてセイゴを使用して再検討を行ない，つぎの結論をえた。

1) 塩水氷貯蔵魚は 0°C 冷蔵庫貯蔵魚に匹敵する好結果を示した。

2) 包装材使用の効果は，貯蔵の初期においては酸化乾燥が防止され外観は良いが，長期になると嫌気的腐敗をする可能性がある。したがつて現在のところ全体的にみて良い方法とはいわれないが，今後の研究の結果如何によつては多獲小型魚への応用も考えられる。

3) 魚体を貯蔵前に急冷し魚体温を 0°～5°C 程度に速やかに低下させる方法は，冷却条件の決定に難点があり，一部は優れた効果をおさめたが，大部分の魚体についてはむしろ否定的な結果で，多獲小型魚への応用は困難である。

4) 麻酔剤使用による効果は全貯蔵期間を通じて期待以上の優れた効果を示したが，なお研究すべき多くの問題点を残している。

アコヤガイおよびイケチョウガイの生化学的研究—VIII. 貝殻の微量成分について (その1)

堀 口 吉 重

(1959年6月4日受理)

BIOCHEMICAL STUDIES ON *PTERIA* (*PINCTADA*) *MARTENSII* (DUNKER) AND *HYRIOPSIS SCHLEGELII* (v. MARTENS)—VIII. TRACE COMPONENTS IN THE SHELLS OF SHELLFISH (PART 1)

Yoshishige HORIGUCHI*

To make clear the relation between the color and the trace components in shell and the effect of the mineral matters in environmental water on variation of the shell composition, the author investigated the trace components in shells of 8 species of marine shellfish and 2 species of limnetic one.

In this paper, the following results regarding the cationic elements in the shells are described.

1) As shown in Tables 1 and 2, a correlation was found between the distribution of acid soluble pigment and Mn content in shells of pearl oyster and black lipped pearl oyster. Similar tendency was found between the blackish pigment and Fe^{+++} content in shells of shellfishes such as baby clam, hard clam and fresh water clam.

2) Remarkable difference in contents of Mn and Mg in shells between the marine shellfishes and the limnetic ones may be inferred to have a relation to the difference of metal contents in water in which they lived.

貝殻は約 95% の $CaCO_3$ と数%の有機物及びその他の微量成分より構成されているが，主要成分である $CaCO_3$ の結晶構造や，chonchiolin のアミノ酸組成等に関する業績にくらべ，貝殻の微量成分については報告が少なく，僅かに真珠およびアコヤガイ貝殻について主として色と関連して微量金属元素の定性的分析結果が報告されているに過ぎない[1),2),3),4)]。

著者等は先に養殖真珠に中性子を照射すると真珠層（アコヤガイ）と真珠核（ガマノセガイ貝殻）ではその変色に著るしい相違のあることを見出したが[5)]，その変色原因を明らかにするために両貝殻中の微量成分の相違を検討する必要が生じた。また真珠の色が微量金属元素と関係するか否かについては定説はないようであるが[1),2),3),4)]，著者は棲息場所，色，光沢等の条件を異にする各種貝殻に含まれる微量成分を比較することにより貝殻の微量成分と色および光沢との関係，貝殻成分におよぼす環境水中の溶存物質の影響等を明らかにしうるのではないかと考えた。

上述の目的を以つて，海産貝では真珠光沢を有する貝殻4種，真珠光沢を有しない貝殻4種，淡水産貝はそれぞれ1種宛，合計 10 種類の貝殻について微量成分の定量，分布，存在状態を分析した。この報告ではまず微量金属元素 (Mn, Fe, Mg, Zn および Cu) の含量と色との関係を中心に述べる。

材料および定量方法

1. 試料貝殻

アコヤガイ，シジミ**，アサリ，ハマグリ，アワビは三重県産，クロチョウガイ，マベは鹿児島県産，イ

* 三重県立大学水産学部 (Fac. Fish. Pref. Univ. Mie, Japan).

** 汽水産シジミ

ケチョウガイは琵琶湖産，ガマノセガイはミシシッピー河産，シャコは沖縄産の貝殻を用いた。貝殻は表面の附着物を除き一夜蒸溜水中に浸して水溶性塩類を溶出させたのち自然乾燥した。貝殻は殻皮層，稜柱層，真珠層に分けられるが，実験目的により貝殻全層を用いる他各層に分けて試料とした。なお各貝とも 2〜4 個の貝殻を粉末混合したのち分析に供した。

2. 分析方法

Mn[6-a)]....貝殻をルツボ中で灰化し HCl に溶かしたのち NaOH と Na_2O_2 を加えて微アルカリ性となし，煮沸すれば $Mn(OH)_2$ を沈澱する。沈澱を沪取し H_2SO_4 に溶かし KIO_4 粉末を加えて煮沸すれば Mn は $KMnO_4$ となり赤色を呈する。冷却後 540 mμ で比色する。

Fe[6-b)]....全 Fe は貝殻を HNO_3 とともに灰化し，HCl に溶かし，その沪液について，つぎに HCl 可溶性全 Fe は貝殻粉末を 2N HCl に溶解，その沪液に HNO_3 を加えて加熱酸化した液について，また HCl 可溶性 Fe^{+++} は貝殻粉末の HCl 可溶液について，それぞれ NH_4CNS を加え生じた $Fe(CNS)_3$ の赤色を 470 mμ で比色する。

Mg[6-c)]....貝殻を灰化し HCl に溶かしたのち，アンモニアアルカリ性下に $(NH_4)_2Sx$ を加え加熱して生じた沈澱を除去すれば妨害物質は大部分除去される。ついで $Ca(OH)_2$ 飽和液を加え $Mg(OH)_2$ の沈澱を生成せしめ大量に混在する Ca より Mg を分離，沪別し Ca を Mg の 100 倍以内に抑える。沈澱は HNO_3 に溶かし加熱乾固して NH_4OH を除く，水にとかし 5 p.p.m. 以下の Mg を含むように試料をとり，titan yellow と NaOH を加えて生じた赤色を 540 mμ で比色する。

Zn[6-d)]....貝殻を灰化後 HCl に溶かし 0.01 N HCl 液とする。Zn 4γ 以下を含む液をとり，酢酸緩衝液 (pH 4.75) と $Na_2S_2O_3$ の存在下に 0.001% dithizone–CCl_4 液と 2 分間振る。CCl_4 液層は乾燥沪紙で沪過したのち 540 mμ で比色する。

Cu[6-e)]....貝殻を灰化後 HCl に溶かし 0.1 N HCl 液とする。4γ 以内の Cu を含む液をとり 0.001% dithizone–CCl_4 液と 2 分間振り，CCl_4 液層は沪紙で沪過したのち 540 mμ で比色する。

実験結果および考察

Mn: アコヤガイ真珠中の Mn の存在についてはすでに報告されており[1),3),4)]，特に高岡[1)]はピンク系真珠に Mn が多いと述べている。分析結果 (Table 1) によれば貝殻中の Mn 含量はその棲息環境と密接な関係があり，海産貝殻の 1〜100 p.p.m. に対し淡水産貝殻では 250〜350 p.p.m. 存在した。また貝殻各層の Mn 分布を見るに一般に殻皮層，稜柱層に多く，特にアコヤガイ，クロチョウガイでは約 50〜100 p.p.m. が見出された。その他の海産貝殻では全層中 0.5〜16 p.p.m. にすぎないが，クロチョウガイの黒色真珠層は 54〜76 p.p.m. の Mn を含み海産各種貝殻の真珠層にくらべ例外的に多い。

アコヤガイとクロチョウガイの殻皮および稜柱層，クロチョウガイの黒色真珠層より酸溶性赤色々素が多量に抽出されるがこの部位に Mn が特に多く含まれ，両者の分布には同じ傾向が見られた。

またイケチョウガイはピンク系真珠を多く産出するが，淡水産貝殻に Mn が多い事実は高岡の指摘したピンク系アコヤ真珠に Mn が多いという報告と関連して注目される。淡水産貝殻に Mn が多く集積されるのは一般に淡水の Mn 溶存量[7)] (痕跡〜15 p.p.m.) が海水のそれ (0.001〜0.01 p.p.m.)[8)] にくらべ多いためであろう。

海産貝殻の真珠層の Mn 含量は 1〜37 p.p.m. であり，クロチョウガイ ＞ アコヤガイ ＞ アワビ ＞ マベの順に多いが，一方真珠層の色はアワビが最も変化に富み，アコヤガイ，マベは中間，クロチョウガイは銀白色で最も変化に乏しい。したがって，これらの真珠層の色と Mn 含量の間に相関々係を見出すことはできない。

Fe: 貝殻中の Fe 含量は古くから報告されている[9)]。アコヤガイ貝殻では Fe の存在を認めない報告もあるが，存在するとの報告が多い[3),4)]。分析結果 (Table 1) によれば 10 種の貝殻はいずれも Fe を含有し，特にアコヤガイの殻皮，稜柱層 (約 400 p.p.m.)，クロチョウガイの殻皮，稜柱層 (約 150 p.p.m.) に多い

Table 1. Mn and Fe contents of the shells of shellfish.

Species		Mn (p.p.m.)	Fe (p.p.m.) Acid insoluble	Acid soluble	Acid soluble Fe^{+++}
アコヤガイ *Pteria martensii* (DUNKER)	Periostracum and prismatic layer	75～107	149～224	238～273	149～183
	Nacreous layer	7～10	4～10	18～21	5
クロチョウガイ *Pteria margaritifera* (LINNÉ)	Periostracum and prismatic layer	58～90	47～51	106～107	39
	Nacreous layer (black)	54～76	6～7	25～27	2～3
	〃 (siver)	9～37	3～4	10～11	3～4
マベ *Pteria penguin* (RÖDING)	Periostracum and prismatic layer	4～5	28～29	44～45	4～5
	Nacreous layer	1～2	5～6	20～21	5～6
ガマノセガイ *Lamprotula* sp.	Whole shell	246～284	8～9	8～11	8～11
イケチョウガイ *Hyriopsis Schlegeli* (V. MARTENS)	Nacreous layer	268～354	19～20	18～28	10～12
シジミ *Corbicula* sp.	Whole shell	14～15	24～27	74～84	47～52
	Prismatic layer		27	22	10
ハマグリ *Meretrix meretrix lusoria* (RÖDING)	Whole shell	4～7	26～27	73～79	55～57
	Prismatic layer		11	5	1
アサリ *Venerupis Semidecussata* (REEVE)	Whole shell	13～16	15～16	68～72	53～62
	Prismatic layer		trace	46	25
シャコガイ *Tridacna* (*Chametrachea*) sp.	Whole shell	trace～1	26～28	12～14	5～6
クロアワビ *Haliotis discus* REEVE	Whole shell	2～3	36～48	49～50	16～18
	Nacreous layer		3	9	4

が，その他の貝殻でも殻皮，稜柱層に多く分布する傾向が見られた。真珠光沢の有無と Fe 含量との間には特別の関係は認められないが，その存在形態とは関係がある。すなわち HCl 可溶性 Fe の中，真珠光沢を有する貝殻では大部分が Fe^{++} として存在するが，真珠光沢のない貝殻では大部分が Fe^{+++} として見出された。アサリ貝殻の黒色系色素は主に硫化鉄に基因するといわれているが[10]，アサリ，ハマグリ，シジミ貝殻は比較的 Fe が多く，特に殻皮には Fe^{+++} が多い。またこれら貝殻の表面には黒褐色系色素が多く両者の分布は同じ傾向を示す。

数種貝殻の真珠層における Fe 含量と色との間には Mn の場合と同様特別の関係を見出すことはできない。

Mg: 貝殻中に Mg の存在することは古くより知られている[9]。分析結果 (Tble 2) によれば海産貝殻には 29～4,000 p.p.m. の Mg が含まれるが特に殻皮，稜柱層 (1,400 p.p.m. 以上) に多く，また真珠光沢を持つ貝殻は無光沢の貝殻にくらべ Mg が多い傾向を認めた。海産貝殻に Mg が多く淡水産貝殻に殆んど含まれないのは海水と淡水の Mg 含量の差に原因すると考えられる。

貝殻中の Mg はすべて HCl 可溶性の形で存在する。

Zn: アコヤガイ貝殻中の Zn は高岡[1]，八坂等[3]により検出されている。分析結果 (Table 2) によれば Zn は Mn, Fe, Mg にくらべてその含量は極めて少なく，アコヤガイの殻皮，稜柱層 (21 p.p.m.)，イケチョウガイ (12 p.p.m.)，クロチョウガイ殻皮，稜柱層 (7 p.p.m.) を除いては痕跡～5 p.p.m. にすぎない。一般に殻皮，稜柱層に多く分布し，例えばイケチョウガイ貝殻全層では 12 p.p.m.，アワビ貝殻では 4 p.p.m.

Table 2. Mg, Zn and Cu contents of the shells of shellfish.

Species		Mg (p.p.m.)	Zn (p.p.m.)	Cu (p.p.m.)
アコヤガイ *Pteria martensii* (DUNKER)	Periostracum and prismatic layer	3,870～4,014	21	2
	Nacreous layer	121～137	2	1 <
クロチョウガイ *Pteria marigaritifera* (LINNÉ)	Periostracum and prismatic layer	3,215～3,439	7	1
	Nacreous layer (black)	124	1 <	1 <
	〃 (silver)	122～158	3	1 <
マベ *Pteria penguin* (RÖDING)	Periostracum and prismatic layer	1,382～1,658	4	1 <
	Nacreous layer	85～159	1	1
ガマノセガイ *Lamprotula* sp.	Whole shell	trace	1 <	2
イケチョウガイ *Hyriypsis schlegeli* (V. MARTENS)	Whole shell	trace	12	3
	Nacreous layer		1 <	
シジミ *Corbicula* sp.	Whole shell	29	1	1 <
	Prismatic layer		trace	
ハマグリ *Meretrix meretrix lusoria* (RÖDING)	Whole shell	49～55	1	trace
アサリ *Venerupis semidecussata* (REEVE)	Whole shell	60	3	1 <
シャコガイ *Tridacna* (*Chametrachea*) sp.	Whole shell	102	1 <	1
クロアワビ *Haliotis discus* REEVE	Whole shell	204	4	1 <
	Nacreous layer		1 <	trace

の Zn が含まれるが，殻皮，稜柱層を除けば，いずれも 1p.p.m. 以下にすぎない。真珠層の Zn 含量は真珠光沢のない貝殻の稜柱層にくらべ若干多い傾向があるが，Zn 含量と真珠層の色との間には特別の関係は認められない。

Cu: アコヤガイ貝殻に Cu の存在することはすでに報告されている[1),3),4)]。分析結果 (Table 2) によれば各種貝殻中の Cu 含量は Zn よりさらに小さく 3p.p.m. 以下にすぎない。したがつて色との関係は判然としない。

最近の報告によればアコヤガイ貝殻または真珠に含まれる微量金属と色との関係について若干相反した結果が提出されている。アコヤ真珠について高岡[1)]は色と微量金属との間にある種の関係を認め，またアコヤガイ貝殻の真珠層について八坂等[3)]は真珠層を色調別に分けて微量金属を分析した結果，両者の間に相関々係を認めたが，沢田[1)]は色調の異なるアコヤガイ貝殻および真珠において色と含有金属の種類との間に特別の関係を見出すことはできなかつた。

著者が色調の異なる 10 種類の貝の貝殻について5金属元素を定量した結果によれば数種の貝の貝殻では殻皮，稜柱層における酸溶性色素と数種金属，特に Mn，および黒褐色々素と Fe^{+++} の分布について相関々係が見られるが，真珠層ではクロチョウガイの黒色真珠層を例外として両者の間に相関々係を見出すことはできなかつた。

要　　約

1) 海産貝8種，淡水産貝2種の貝殻について Mn, Fe, Mg, Zn および Cu の含量，分布，存在状態を分析した。

2) 10 種の貝の貝殻より Mn は痕跡～350 p.p.m., Fe は約 13～500 p.p.m., Mg は痕跡～4,000 p.p.m., Zn は痕跡～20 p.p.m., Cu は痕跡～3 p.p.m. をえた。

3) アコヤガイ，クロチョウガイでは殻皮，稜柱層，黒色真珠層に酸溶性赤色々素が多いが，これらの層には各種金属が多く，特に Mn と色素の分布は類似する。

4) アサリ，ハマグリ，シジミ貝殻の殻皮における黒褐色系色素と Fe^{+++} の分布には相関々係が見られる。

5) 真珠層の色と金属元素の種類，含量の間に特別の関係を見出すことはできなかつた。

6) 貝殻の Mn, Mg 含量は淡水と海産貝殻では明瞭な差異が認められた。

終りに臨み，本研究に対し懇切なる御指導を賜わつた本学三宅正人教授，並びに九州大学農学部富山哲夫教授に対し謹んで感謝の意を表する。

文　　献

1) 高岡　斉: 自然, **10** (8), 48 (1955).
2) 神前武和: 生理生態 **1**, 247 (1947).
3) 八坂　茂・宮原昭二郎・田端義明: 長崎大水産学部研究報告, **4**, 1 (1956).
4) 沢田保夫: 国立真珠研究所報告, **2**, 68 (1957).
5) 堀口吉重・辻井　禎・吉井義一・岡田彌一郎: JRR–1 原子炉の共同利用による研究報告会にて口頭発表.
6-a) E. B. SANDELL: "*Colorimetric Determination of Traces of Metals*", Interscience Publishers. Inc., N. Y. (1950), p. 429.
6-b) ―――――: 〃 p. 363.
6-c) ―――――: 〃 p. 418.
6-d) ―――――: 〃 p. 618.
6-e) ―――――: 〃 p. 295.
7) E. H. HUTCHINSON: "*A Treatise on Limnology* vol. 1", John Wiley & Sons, Inc., N. Y. (1957), p. 801.
8) H. V. SVERDRUP, M. W. JOHNSON and R. H. FLEMING: "*The Oceans*", Prentice-Hall, Inc., N. Y. (1949), p. 176.
9) 大谷武夫・富士川膠: 軟体動物の化学, 厚生閣, 東京 (1934), p. 123.
10) 大島幸吉: 水産動物化学, 上巻, 朝倉書店, 東京 (1949), p. 131.

アコヤガイおよびイケチョウガイの生化学的研究—IX. 貝殻の微量成分について（その2）

堀　口　吉　重

(1959 年 6 月 12 日受理)

BIOCHEMICAL STUDIES ON *PTERIA* (*PINCTADA*) *MARTENSII* (DUNKER) AND *HYRIOPSIS SCHLEGELII* (v. MARTENS)—IX. TRACE COMPONENTS IN THE SHELLS OF SHELLFISH (PART 2)

Yoshishige HORIGUCHI*

In succession to the previous report (part 1)[1], organic matter and anionic elements in the shells of shellfish were analyzed with following results.

1) As shown in Table 1, an appreciable difference in the N content between the iridescent shells (more than 0.27 per cent) and uniridescent ones (less than 0.08 per cent) may suggest that the iridescence of shells is originated from N compound, perhaps chochiolin.

2) Reducing sugar of 1.25 to 8.00 per cent was obtained from chonchiolins, and proved to be composed mostly of hexosamine (Table 2).

3) As for S divided by the solubility in acid, the most part of acid-soluble S existed as organic form in nacreous layer but existed as sulfate in shells of baby clam and jiant clam.

4) The great part of P in shells existed as acid insoluble form (organic P).

前報（その1）[1]において10種類の貝の貝殻について Mn, Fe, Mg, Zn および Cu を定量し，それらの金属含量と貝殻の色，環境水中の溶存金属との関係等を述べたが，引続きアニオンおよび有機物について貝殻中における分布，含量，存在形態を分析し，これらの成分と貝殻の色沢，貝殻形成機構との関連性等を検討した。

材料および分析方法

1. 試料貝殻

前報[1]において使用した試料と同じ貝殻を用いた。

2. 分析方法

N····全-N の測定は貝殻をそのまま試料とし，酸溶性-N については 2N 温 HCl で貝殻粉末を脱灰，冷却，濾過した濾液について，酸不溶性-N は脱灰後の残渣についてそれぞれ H_2SO_4 加水分解したのちミクロケルタール法[2]に従い各態の N を測定した。

還元糖····アコヤガイ，ガマノセガイ，イケチョウガイ貝殻について 10% 酢酸脱灰，洗滌，乾燥して得られた chonchiolin を 1N および 5N H_2SO_4 で分解が完了するまで（約 10 時間）加熱し，その中和液について SCHAFFER-SOMOGYI 法[3]により還元糖を定量した。また chonchiolin の H_2SO_4 加水分解液を $Ba(OH)_2$ で中和し $BaSO_4$ を除いた上澄液の濃縮液をブタノール：水：エタノール (4：1：1) を展開剤とした一次元ペーパークロマトグラフィにより室温で約 20 時間上昇させ，ベンジジン試薬と，NH_4OH–$AgNO_3$ 液により糖を呈色せしめ Spot の Rf 値を測定した。

* 三重県立大学水産学部 (Fac. Fish. Pref. Univ. Mie, Japan).

アミノ糖‥‥ガマノセガイの chonchiolin を 4N HCl で8時間加水分解したのち ELSON-MORGAN 法を改良した SCHLOSS 法[4] にしたがいアセチルアセトン試薬とエールリッヒ試薬により発色させ 530 mμ で比色した。

S‥‥全–S の測定には貝殻をベネヂクト試薬 ($Cu(NO_3)_2 + KClO_3$) とともに灰化し，HCl に溶かし，NH_4OH で中和後その濾液について，酸溶性硫酸塩–S は 2N 温 HCl で貝殻粉末を溶かし，NH_4OH 中和後その濾液について，酸不溶性–S はその時の残渣をベネヂクト試薬とともに灰化し HCl に溶かした液について，それぞれ $BaCl_2$ を加え生じた $BaSO_4$ の沈澱を重量法により定量した。

P‥‥全–P の測定には貝殻を灰化後 2N HCl に溶かし常法により痕跡の Si を除いた液について，酸不溶性–P は 2N HCl で貝殻粉末を脱灰した不溶残渣を灰化し，HCl に溶かした液について，それぞれ FISKE & SUBBAROW 法[5] により発色させ 660 mμ で比色した。

Cl‥‥貝殻粉末を HNO_3 に溶かし，$KMnO_4$ を加えて有機物を酸化し，ついでグルコースで脱色する。一定過剰の $AgNO_3$ 添加により生じた AgCl の沈澱を濾別し，残存 $AgNO_3$ を Fe^{+++} の存在下に KCNS で滴定し Cl を求めた。酸不溶性–Cl は HNO_3 不溶残渣を $KMnO_4$ 酸化し同様に定量した。

実験結果および考察

N: 貝殻中の有機物含量については多くの測定結果が報告されているが，大体 6% 以下である。著者が各種貝殻の N 含量を測定した結果 (Table 1) によればマベ殻皮および稜柱層 (1.7%)，アコヤガイ殻皮および稜柱層 (約 1%)，クロチョウガイ殻皮および稜柱層 (約 0.7%) 等の殻皮層および稜柱層に最も多く，

Table 1. N and S contents of the shells of shellfish.

Species		Total–N (%)	Acid insol.–N (%)	Acid sal.–N (%)	Total–S (mg·%)	Acid insol.–S (mg·%)	Acid sol. sulfate–S (mg·%)
アコヤガイ *Pteria martensii* (DUNKER)	Periostracum and prismatic layer	0.988	0.830	0.158	227.9	27.2	181.7
	Nacreous layer	0.470	0.395	0.075	55.0	15.3	trace
クロチョウガイ *Pteria margaritifera* (LINNÉ)	Periostracum and prismatic layer	0.705	0.649	0.056	228.0	17.1	191.6
	Nacreous layer (black)	0.377	0.300	0.077	41.2	22.8	trace
	〃 (silver)	0.276	0.227	0.049	32.4	11.8	trace
マベ *Pteria penguin* (RÖDING)	Periostracum and prismatic layer	1.745	0.598	1.151	211.2	18.3	173.8
	Nacreous layer	0.344	0.299	0.045	49.0	11.2	trace
ガマノセガイ *Lamprotula* sp.	Whole shell	0.076	0.075	trace	12.6	11.9	trace
イケチョウガイ *Hyriopsis schlegelii* (V. MARTENS)	Nacreous layer	0.266	0.207	0.059	22.7	6.0	trace
シジミ *Corbicula* sp.	Whole shell	0.215	0.172	0.043	37.5	7.7	trace
	Prismatic layer	0.056	0.042	0.014	19.7	—	—
ハマグリ *Meretrix meretrix lusoria* (RÖDING)	Whole shell	0.183	0.130	0.053	28.6	7.8	trace
	Prismatic layer	0.063	0.042	0.021	18.9	—	—
アサリ *Venerupis semidecussata* (REEVE)	Whole shell	0.092	0.059	0.033			
	Prismatic layer	0.054	0.035	0.019	32.2	5.7	26.7
シャコガイ *Tridacna (Chametrachea)* sp.	Whole shell	0.028	0.028	trace	21.9	2.7	18.2
クロアワビ *Haliotis discus* REEVE	Whole shell	0.283	0.201	0.082	47.3	9.5	trace

ついでアコヤガイ，クロチョウガイ，マベ，アワビ，イケチョウガイの真珠層には 0.26～0.54% の N が含まれた。これに対しガマノセガイ，シャコガイ，アサリ，ハマグリ等の真珠光沢を有しない貝殻（殻皮層を除く）には 0.03～0.08% の N を含むにすぎない。

貝殻の N 化合物の中，酸不溶性–N 化合物は chonchiolin として知られているが，全–N の大部分は chonchiolin–N よりなり，マベ殻皮の場合を除いて大体全–N の 80% 以上はそうである。

真珠光沢生成の一原因を chonchiolin の石灰塩に求める説[6]があるが，著者の実験結果によると真珠光沢の有無により貝殻の N 含量，chonchiolin–N 含量に明らかな相違が認められ，真珠光沢を生成するためには少くも貝殻の N は 0.26% 以上存在する必要のあることが示された。

貝殻の酸溶性–N 含量も真珠光沢の有無により相違し，真珠層の酸溶性–N (0.045～0.077%) は真珠光沢のない貝殻（殻皮層を除く）のそれ（痕跡～0.021%）にくらべて多い。またクロチョウガイの黒色真珠層は銀白色真珠層にくらべて酸溶性–N が多い。これは黒色真珠層の酸溶性色素が N 化合物よりなることにも一因があろう。

還元糖: アコヤガイ，ガマノセガイ，イケチョウガイの chonchiolin を 1 および 5N H_2SO_4 で 6～10 時間加水分解することにより分解は完了し，chonchiolin 中グルコースとして 1.25～8.00% の還元糖がえられた。また還元糖は小数例ながら真珠層よりも殻皮および稜柱層の chonchiolin に多く含まれる (Table 2)。chonchiolin 中の還元糖の種類を決定するためにガマノセガイ，アコヤガイ chonchiolin の酸加水分解物をペーパークロマトグラフィにより定性分析した結果，Rf 値 0.11, 0.13 の 2 Spots をえた。これは同条件で展開したヘキソサミンとガラクトースにそれぞれ相当する。さらにアミノ糖を定量しガマノセガイ chonchiolin 中 3.2～3.7% をえた。すなわちガマノセガイ chonchiolin に含まれる還元糖の大部分はアミノ糖よりなる。アコヤガイ，イケチョウガイ貝殻の chonchiolin 中にもアミノ糖が存在した。この結果はさきに著者がアコヤガイ外套膜より貝殻形成に関連ある物質として mucopolysaccharide を分離し[7]，その構成糖としてアミノ糖（全部ガラクトサミンよりなる[8]）をえた点と関連して注目される。

Table 2. Yield and composition of crude chonchiolin.

Species		Yield (%)	Total–N (%)	Pure chonchiolin* / Crude chonchiolin (%)	Red. Sugar (as glucose) (%)	Hexosamine (%)
アコヤガイ *Pteria martensii* (DUNKER)	Periostracum and prismatic layer	4.39	14.11	88.19	4.75	+
	Nacreous layer	2.41	13.48	84.25	1.25	+
ガマノセガイ *Lamprotula* sp.	Whole shell	0.51	13.63	85.18	3.69～3.96	3.20～3·70
イケチョウガイ *Hyriopsis schlegelii* (V. MARTENS)	Periostracum and prismatic layer	1.53	14.53	89.69	8.00	+
	Nacreous layer	1.20	12.02	75.13	3.00	+

* Pure chonchiolin was Culculated as follow,
Pure chonchiolin $= 6.25 \times N \cdot \%$ in Crude chonchiolin.

S: 貝殻中の S 含量についての報告によれば，数種貝殻の chonchiolin 中には 0.6～0.8% の S が含まれ，またアコヤガイ貝殻，真珠中には SO_4 として 0.10～0.41% が含まれている[6]。著者の測定した各種貝殻の S 含量およびその存在形態を示せば Table 1 のごとくである。

全–S はアコヤガイ，クロチョウガイおよびマベ貝殻の殻皮および稜柱層に特に多く (200mg·% 以上)，その他の貝殻では少ない (10～55mg·%)。真珠光沢を有する貝殻は真珠光沢のない貝殻よりも S 含量が多い傾向を示した。貝殻中の S の中，$BaCl_2$ の添加により $BaSO_4$ として沈澱する無機硫酸塩はアコヤガイ，クロチョウガイおよびマベ貝殻の殻皮および稜柱層（いずれも S 含量は約 170mg·% 以上）とアサリ，シャコガイ貝殻にのみ見出され，その他の貝殻では証明されなかった。前記貝殻を除く多くの貝殻では S は主に非硫酸塩として存在するが，特に真珠光沢を有する貝殻では大部分が酸溶性の非硫酸塩として見出され

chonchiolin–S は少い。

P: 数種二枚貝貝殻の P については古くより知られており，また色調を異にするアコヤガイ貝殻の P については沢田[10] により報告されている。10 種類の貝殻について P 含量を測定した結果 (Table 3) によれば，各貝殻の P は 4～21 mg·% の範囲にあり，アコヤガイ，クロチョウガイおよびマベ貝殻の殻皮および稜柱層に若干 P が多い傾向が見られるが，淡水産と海産による差異，真珠層の有無による差異は著しくない。

Table 3. P and Cl contents of the shells of shellfish.

Species		Total–P (mg·%)	Acid insol.–P (mg·%)	Cl (mg·%)
アコヤガイ *Pteria martensii* (DUNKER)	Periostracum and prismatic layer	16.1～21.0	20.6	108.1
	Nacreous layer	7.2～12.4	3.6	35.2～44.0
クロチョウガイ *Pteria margaritifera* (LINNÉ)	Periostracum and prismatic layer	13.7～14.7	11.1	88.3
	Nacreous layer (black)	6.3～ 7.2	6.3	51.4
	〃 (siluer)	4.2～ 9.0	3.8	48.1
マベ *Pteria penguin* (RÖDING)	Periostracum and prismatic layer	13.9～14.7	10.4	20.3
	Nacreous layer	7.4～ 8.1	3.9	35.3
ガマノセガイ *Lamprotula* sp.	Whole shell	7.8～ 9.3	4.0	trace
イケチョウガイ *Hyriopsis schlegelii* (V. MARTENS)	Whole shell	7.4～ 8.3	4.7	trace
シジミ *Corbicula* sp.	Whole shell	10.7～11.2	10.8	7.4～ 7.7
ハマグリ *Meretrix meretrix lusoria* (RÖDING)	Whole shell	6.5～ 8.7	—	26.6～30.1
アサリ *Venerupis semidecussata* (REEVE)	Whole shell	5.8～ 6.8	5.7	13.9～14.0
シャコガイ *Tridacna* (*Chametrachea*) sp.	Whole shell	8.0～ 8.5	4.2	3.0～ 4.1
クロアワビ *Haliotis discus* REEVE	Whole shell	9.6～10.7	4.8	11.9～17.6

貝殻中の P の存在形態については若干の報告がある。渡部[11] は電子線廻析の結果よりアコヤガイ貝殻および真珠に $Ca_3(PO_4)_2$ 結晶の存在を認め和田[12] も同様の結果をえたがその後否定的結果を報告している[13]。

貝殻形成における P の行動は骨化現象と比較し極めて特異的である。すなわち人の血液における $[Ca^{++}]^3 \times [PO_4^{\equiv}]^2$, $[Ca^{++}] \times [CO_3^{=}]$ のイオン積はいづれも飽和に近く，したがつて骨は主に $Ca_3(PO_4)_2$ と $CaCO_3$ の形で沈着して形成されるが，アコヤガイ，イケチョウガイの血液，外套膜中のそれらイオン積は人の血液と近似するにもかかわらず[14]，貝殻に P は微量しか存在しない。骨と貝殻の沈着においてかかる大差を生ずる理由は明らかでないが，貝殻中に微量ながら存在する P が骨と同様 $Ca_3(PO_4)_2$ よりなるか否かは注目に値する。そこで貝殻を 2N HCl で脱灰し chonchiolin 中の P を測定したところ，貝殻全–P の約 50～100% は酸不溶–P として見出された。酸不溶–P を chonchiolin に含まれる有機–P と見做せば貝殻中の P は大部分が有機–P として存在することになり，骨の成分とは著しく相違する。一方，酸溶性フラクションに見出される P は無機–P の存在を意味するか，或は脱灰操作中に有機–P より二次的に生成されたものであり，和田の報告せるごとく貝殻中に $Ca_3(PO_4)_2$ は存在しないかは明らかでないが，この結果は外套膜より貝殻構成物質が分泌される際，小量ながら分泌される P の大部分は有機–P よりなり無機–P の分泌は極めて少いことを暗示している。

Cl: 貝殻中の Cl 含量を定量した結果 (Table 3) によれば，海産貝殻には 3～108 mg·% の Cl が見出

された。特にアコヤガイ殻皮および稜柱層 (108 mg・%)，クロチョウガイ殻皮および稜柱層 (79 mg・%) に多く，また N 含量の多い貝殻には大体 Cl が多い傾向が見られた。

淡水産貝殻に Cl はほとんど見られず，汽水産貝殻（シジミ）にくらべ海水産貝殻に Cl が多く存在するのは Mn, Mg[1] と同様環境水中の Cl 含量の影響によるものと考えられる。海水中の Cl は貝殻中の Cl にくらべ極めて濃度が高いので海産貝殻の殻皮のごときは海水が機械的に混入し Cl 含量を高める可能性がある。しかしながら Cl について海水中に比較的多い SO_4 が海産貝殻の真珠層にほとんど含まれない事実は海産貝殻の真珠層に含まれる Cl が海水の機械的混入にのみ由来せず，貝の正常代謝物として分泌され貝殻に沈着する可能性を指示している。

要　　約

1) 10 種類の貝について貝殻中の有機物，S, P, Cl の含量，分布，存在状態を分析し，これらの成分と貝殻の色沢，環境水，貝殻形成機構との関係について検討した。

2) 真珠光沢を有する貝殻の真珠層は N 含量 0.27% 以上，真珠光沢のない貝殻（殻皮を除く）の N は 0.08% 以下であり，真珠光沢の有無と貝殻中の N 含量の間に明白な関係が見出された。

3) chonchiolin 中には 1～8% の還元糖が存在し，ガマノセガイ貝殻では還元糖の大部分はアミノ糖よりなる。

4) 貝殻中の S は一般的に非硫酸塩として存在し，真珠層より 23～55 mg・%，無光沢貝殻（殻皮を除く）より 12～19 mg・% をえた。一部の貝殻の殻皮および稜柱層とアサリ，シャコ貝殻の S は大部分が無機硫酸塩として存在する。

5) 貝殻中の P は 4～21 mg・% 含まれるが大部分は有機-P として存在する。

6) Cl は淡水産貝殻では痕跡，海産貝殻では 3～108 mg・% を含む。

終りに臨み，終始懇篤な御指導を賜つた本学三宅正人教授，ならびに九州大学農学部富山哲夫教授に対し謹んで感謝の意を表する。

文　　献

1) 堀口吉重：本誌投稿中。
2) *Methods of Analysis A. O. A. C.*, 7 th Edition, (1950), p. 745.
3) P. A. Schaffer and M. Somogyi: *J. Biol. Chem.*, **100**, 695 (1933).
4) B. Schloss: Thesis, New York University (1948), Cited in J. Einbinder and M. Schubert: *J. Biol. Chem.*, **185**, 725 (1950).
5) C. H. Fiske and Y. SubbaRow: *J. Biol. Chem.*, **66**, 375 (1925), **81**, 624 (1929).
6) 小串次郎：真珠の研究，伊藤文信堂，東京 (1934), p. 144, p. 145.
7) 堀口吉重：本誌，**22**, 463 (1956).
8) ―――：三重県立大水産学部紀要に投稿中.
9) 大谷武夫・富士川膠：軟体動物の化学，厚生閣，東京 (1930), p. 123.
10) 沢田保夫：国立真珠研究所報告，**2**, 68 (1957).
11) 渡部哲光：科学，**26**, 302 (1956).
12) 和田浩爾：国立真珠研究所報告，**1**, 7 (1956).
13) ―――：　〃　，**4**, 275 (1958).
14) 堀口吉重：日本水産学会新潟大会 (1958) にて口頭発表.

幽門垂蛋白分解酵素に関する研究—II*.

イオン交換樹脂による鮪幽門垂蛋白分解酵素の精製

斗ケ沢宣久・勝又悌三

(1959 年 6 月 8 日受理)

STUDIES ON THE PROTEINASE OF PYLORIC CAECA—II. PREPARATION OF CRYSTALLINE PROTEINASE OF TUNNY PYLORIC CAECA BY ION EXCHANGE RESIN

Yoshihisa TOGASAWA and Teizo KATSUMATA**

After purification of the proteinase of tunny pyloric caeca with Amberlite XE–64 (Fig. 1 ∼5) and carrying out of the column chromatography with Amberlite IRC–50 (Fig. 6) as in the preliminary experiments, the preparation of crystalline proteinase was made as follows: distilled water extraction of ground pyloric caeca, adsorption of enzyme with Amberlite XE–64, elution of proteinase after washing the resin for removal of amylase, salting-out with ammonium sulphate, dialysis, precipitation and crystallization with acetone (Fig. 7).

Crystals of the proteinase showed the same form as in the previous report.

The crystalline proteinase was obtained with an yield of 4.8% in activity, and a specific activity increased 20.9 times as compared with the original solution (Table 2).

最近イオン交換樹脂が酵素の精製に使用され[1-7]，細菌 proteinase もこの方法で結晶化されている[8-12]。著者等はさきに鮪幽門垂蛋白分解酵素を結晶状に分離し報告したが[13]，操作が比較的繁雑でかつ収量が悪かつたのでこの度 amberlite IRC–50 (XE–64) を用いて同酵素のクロマトグラフィを行い，Batchwise 法により結晶化を試み好結果をえたので報告する。

実験方法

1. 酵素液調製法: 新鮮な鮪 *Thunnus orientalis* TEMMINCK et SCHLEGEL 磨砕幽門垂の 3 倍量水抽出液をガーゼおよび脱脂綿で沪過してえた不透明酵素液を原液（A 液）として供試した。

2. 酵素力測定法，酵素単位表示法，酵素純度表示法: 前報[13-15]に準じて行なつた。なお amylase activity の測定は前報記載[13] のスケールを 1/2 にして行なつた。

3. イオン交換樹脂の調製: amberlite IRC–50 (100∼200 メッシュ，クロマトグラフ用) および amberlite XE–64 (200∼400 メッシュ) を使用し，いずれも HIRS 等[1])の方法に準じて処理した。すなわち amberlite XE–64 300 g に 700 ml の蒸溜水を加えて攪拌，微細粒子を除去し，ついで 400 ml の蒸溜水を加えて再び攪拌洗滌，上澄液が透明になるまで洗滌を行ない，BUCHNER 沪斗を用いて沪過し風乾する。乾燥後アセトン 500 ml を加えて 3 時間攪拌し沪過，洗液が無色透明になるまでアセトンで洗う。ついでアセトンを完全に除くため水で洗滌する。風乾後 1 l の蒸溜水に懸濁し攪拌しながら 112 g NaOH (40% 溶液として) を 30 分を要して加え，3 時間攪拌後上澄液を捨て，上澄液の pH が約 10 になるまで水洗を行なう。水洗後 3N HCl 2 l に懸濁して 4 時間攪拌し最後によく樹脂を水洗，風乾して実験に供した。IRC–50 もこれに準じて処理した。

---

* 昭和 34 年 4 月，日本農学大会水産部会において講演

** 岩手大学農学部 (Fac. Agr. Iwate Univ.).

結果ならびに考察

1, XE-64 による酵素の吸着におよぼす pH の影響

酵素結晶化の予備実験として XE-64 による酵素吸着におよぼす pH の影響を試験した。すなわち XE-64 500 mg を各々 5 ml のメスフラスコにとり，pH 4.0～6.0 の M/20 acetate buffer をそれぞれ加えて 5 ml とし，一昼夜室温に放置して緩衝化する。buffer を除去し，A液をさらに硅藻土沪過してえた透明酵素液（B液）をそれぞれ 2 ml づつ加え上記各 pH の acetate buffer で充たし，10 分間室温に放置後遠心分離（10000 r.p.m., 5 分）してえた上澄液を酵素力測定に供した。なお各 pH 毎に control test を行い，両者の差から XE-64 に吸着された酵素の百分率を算出し結果を Fig. 1 に示した。

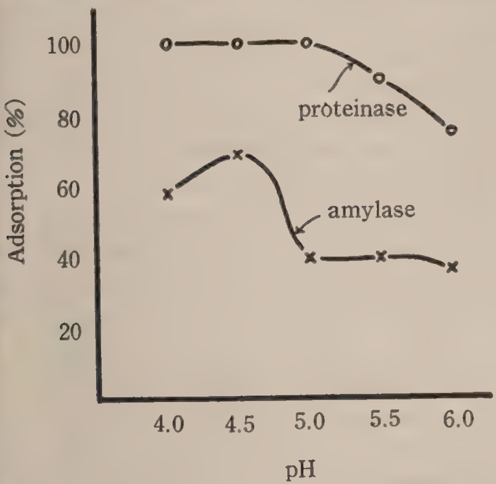


Fig. 1. Adsorption of proteinase and amylase of tunny pyloric caeca on Amberlite XE- 64 with acetate buffer at various pH.
Adsorption % of the proteinase were shown by the activity after 1 hr. incubation and those of the amylase after 20 hrs. incubation.

すなわち proteinase は pH 4.0～5.0 で 100% 吸着され，pH 5.5 で 90%，pH 6.0 で 75% に低下するが，amylase は pH 4.0, 4.5 でそれぞれ 57.9%，69.6% 吸着され，pH 5.0～6.0 では約 40% 吸着される。以上の結果より本実験において amylase は比較的吸着されず proteinase をよく吸着する pH 5.0 を採用した。

2. 吸着におよぼす XE-64 の量的関係

XE-64 の各量をそれぞれ 5 ml メスフラスコにとり pH 5.0 の M/20 acetate buffer を上記のごとく加え，一夜放置して緩衝化した後 buffer を除き，B 液 2 ml づつ加え，さらに同一 buffer で充たし，以下上記の場合と同様に処理しその上澄液を酵素試験に供した。

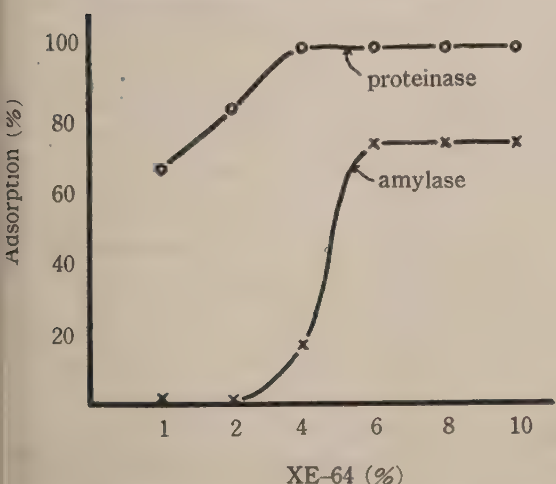


Fig. 2. Adsorption of proteinase and amylase on various amounts of XE-64 with acetate buffer at pH 5.0.
Adsorption % of the proteinase were shown by the activity after 1 hr. incubation and those of the amylase after 20 hrs. incubation.

吸着百分率は Fig. 2 の如くで proteinase は 1% 添加で 66.7%，2% 添加で 83.4% 吸着され，4% 以上では完全に吸着されるが amylase は 2% 添加まで全く吸着されず，4% 添加で 17.7%，6～10% 添加で 73.6% 吸着される。したがつて本実験においては amylase は幾分吸着するが proteinase を完全に吸着する 4% 添加（B 液のみに対しては 10% に相当）を採用した。

3. amylase の除去および proteinasc の溶出

i) M/100 acetate buffer による amylase の除去

XE-64 300 mg を 5 ml メスフラスコにとり，実験2のごとくにしてえた adsorbate に M/100 acetate buffer (pH 5.0) 3 ml 加えて攪拌，遠心分離して洗液をうる。同様の洗滌操作を5回繰返し各々の洗液について酵素力を測定した結果，proteinase は全く洗液中に存在せず amylase は3回の洗滌でほとんど完全に除去された (Fig. 3)。

ii) 各種 buffer による proteinase の溶出

amylase の除去後 proteinase の溶出のため下記 buffer (M/5, pH 7.5) を調製した。

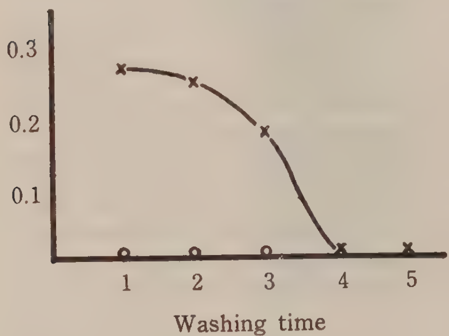
(a) KH_2PO_4–Borax, (b) KH_2PO_4–NaOH, (c) KH_2PO_4–Na_2HPO_4

(d) $\left.\begin{matrix}KCl\\H_3BO_4\end{matrix}\right\}$–$Na_2CO_3$, (e) NH_4Cl–NH_4OH, (f) Citric acid–Na_2HPO_4

XE-64 200 mg を各々 5 ml メスフラスコにとり，実験2のごとくにしてえた adsorbate に M/100 acetate buffer (pH 5.0) 3 ml を加えて攪拌後遠心分離して洗液を捨てる。洗滌操作を3回繰返した後上記 buffer をそれぞれ 3 ml 加えてよく攪拌し，遠心分離してえた上澄液を proteinase の酵素力測定に供した。control test も同時に行い溶出百分率 (溶出液中の全 proteinase unit/control test における全 proteinase unit × 100) を算出した結果，溶出効果は (c) phosphate buffer が最もよく，ついで (a), (b) が 80% 前後，(f) が 66%，(e) が 48%，(d) が 24% と低下する (Fig. 4)。

iii) proteinase の溶出におよぼす pH の影響

XE-64 200 mg を各々 5 ml メスフラスコにとり，実験2のごとくにしてえた adsorbate を M/100 acetate buffer (pH 5.0) 3 ml で3回洗滌後，pH 6.5～8.5 の M/5 phosphate buffer をそれぞれ 5 ml 加えて攪拌し遠心分離してえた上澄液を proteinase 酵素力の測定に供した。なお control test も同時に行い溶出百分率を算出し結果を Fig. 5 に示したが，pH



○—○ Proteinase activity (N/100 alcoholic KOH ml.)
×—× Amylase activity (N/20 $Na_2S_2O_3$ ml.)

Fig. 3. Removal of amylase from XE-64 on which proteinase and amylase were adsorped, with M/100 acetate buffer at pH 5.0.
Enzyme activities were measured after 20 hrs. incubation.

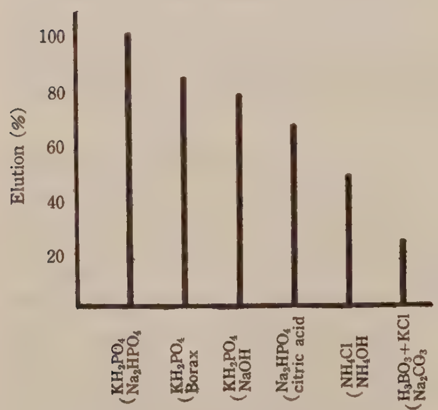


Fig. 4. Elution of proteinase from XE-64 with various buffers at pH 7.5.
Elution % were shown by the proteinase unit after 1 hr. incubation.

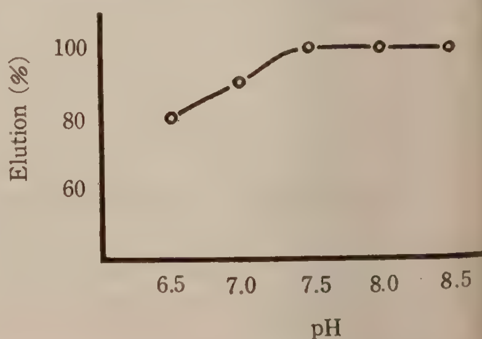


Fig. 5. Elution of proteinase from XE-64 with phosphate buffer at various pH.
Elution % were shown by the proteinase unit after 1 hr. incubation.

6.5 で 80%, 7.0 で 90% 溶出されるが 7.5 以上ではいずれも 100% 溶出された。

4. クロマトグラフィ

再生した amberlite IRC–50 (100〜200 メッシュ, クロマトグラフ用) 60 g を M/20 acetate buffer (pH 5.0) 300 ml に懸濁し, 攪拌しながら徐々に 30% NaOH を加えて pH 4.8 に緩衝化して一夜放置後, 1.8 ×25 cm のカラムを調製し, 同一 buffer 400 ml を通入す。ついで B 液 100 ml を 1 N HCl で pH 5.0 にし僅かに生ずる沈澱を硅藻土沪過後 60 ml/hr の速度で通じ, 液が切れたところで M/100 acetate buffer (pH 5.0) に代え, 30 ml/hr の速度で流下, 吸着 amylase を除去した後 M/5 phosphate buffer (pH 7.5) に代え, 30 ml/hr の速度で流下し吸着 proteinase を溶出させた。なお上記操作は凡て 10〜12°C で行つた。

溶出液は 10 ml を 1 fraction として集めその各々について proteinase, amylase 酵素力, 蛋白量, 色素, pH 等を測定し結果を Fig. 6 に示した。

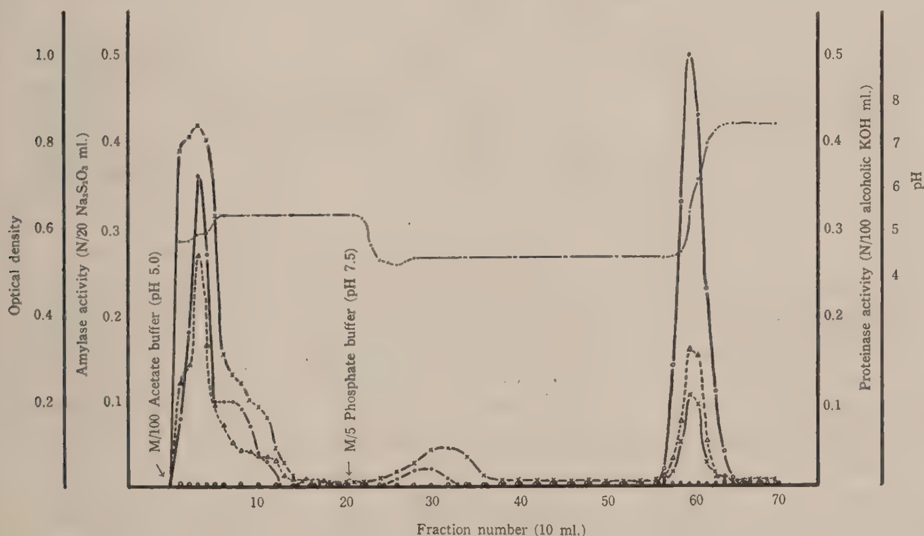


Fig. 6. Column chromatography of proteinase of tunny pyloric caeca.
○—○—○ Proteinase activity　● ● – ● Amylase activity
×—×—× Protein (O. D. at 750 mμ)　·—·—·—· pH
△—△—△ Pigment (O. D. at 375 mμ)

なお proteinase 酵素力は N/100 alcoholic KOH の ml 数, amylase 酵素力は N/20 $Na_2S_2O_3$ の ml 数で表わしたものである。蛋白量の決定は LOWRY 等[16] の改良法[17] により試験管に試料 0.5 ml をとり, $CuSO_4$–potassium tartrate 溶液 5 ml を加えて良く混合し, 35°C に 10 分間放置後 Folin 試薬 (1 N) 0.5 ml を速かに加えて振盪混和し, 35°C に 20 分放置後 BECKMAN spectrophotometer を用いて 750 mμ における吸光度を測定し optical density で示し, また色素は 375 mμ (B 液の吸収極大) における optical density で示したものである。pH は東亜電波株式会社製 pH メーターを用い測定した。

結果——proteinase は fraction number (以下 N_0 と略す) 57 から溶出され, N_0 60〜61 で最高の活性を示し, N_0 65 まで溶出されるがそれ以外の N_0 では全く溶出されなかつた。

amylase は N/100 acetate buffer (pH 5.0) ではじめ N_0 1〜12 で略々完全に除かれ, N_0 3 で最高の活性を示した。M/5 phosphate buffer (pH 7.5) に代えて後 N_0 26〜32 までをきわめて微量の amylase が溶出されるがその他の N_0 には全く溶出されなかつた。

蛋白質は N_0 1〜5 でよく溶出され, N_0 14 まで漸減し, N_0 15〜22 まではほとんど溶出されず, M/5 phosphate buffer (pH 7.5) に代えた直後 N_0 24〜36 で低いピークが現われるが N_0 40〜57 までまたほとんど溶出されず, N_0 58〜64 で第 3 のピークが現われる。

第 1 のピークは amylase 活性とよく合致し, proteinase 活性は全くみられない事実から, このピーク

は amylase および他の不純蛋白質の溶出を示すものと思われ，第2のピークはきわめて微弱ながら amylase 活性があり，M/100 acetate buffer で除去されなかつた amylase の一部および不純蛋白質が再び溶出されたものと考えられる。また第3のピークは proteinase 活性とよく合致し，amylase 活性が全く認められない点から大部分 proteinase に起因する蛋白質と思われる。

かくして proteinase, amylase を各々単一のピークとして溶出しえた。

色素の溶出は第2のピークを除いては蛋白の溶出量とほぼ類似し，No 1～5 まで高いピークを示し，No 6～18まで漸次減少し，No 57～64 で再びピークが現われるが，その他の No には全く溶出されなかつた。

pH は No 1～5 で pH 4.7 から 5.2 に変るが No 6～20 まで pH 5.3 で一定値を示し，M/5 phosphate buffer (pH 7.5) に代えた直後 5.3 から逐次 4.15 まで低下するが No 28～57 までは pH 4.3 で一定値を示す。No 58 から急に pH が上昇しはじめ No 59 で pH 4.45, No 60 で 5.35‥‥No 64 で 7.38 となり No 65～70 では pH 7.4 と一定の値を示す。

最後の pH の上昇は proteinase の溶出とよく一致し，酸性側でほとんど proteinase の損失なしに amylase を除去することが可能であり，アルカリ側で amylase を全く混入しない proteinase を溶出することができた。

5. proteinase の結晶分離

実験 1～4 までにえた結果を応用し Fig. 7 に示す方法で鮪幽門垂 proteinase の結晶分離を行つた。なおえられた結晶酵素は前報[13] Fig. 4 と同様であり掲載を省略した。

6. 精製過程における酵素力，収量ならびに比活性度

精製過程 (cf. Fig. 7) における proteinase 酵素力を N/100 alcoholic KOH の ml 数で示すと Table 1 のごとくであり，その収量ならびに比活性度を示すと Table 2 のごとくである。なお，表中収量，比活性度は前報[15] に準じ算出したものである。

結果，結晶 proteinase の収量は酵素原液（A液）に対して 4.8%，比活性度は 20.9 倍であり，前報[13]に比較して原液に対する比活性度はほとんど同一であるが，収量は約3倍に増加した。

Fig. 7. Crystallization procedure of tunny pyloric caeca proteinase by Amberlite XE-64

Fresh tunny pyloric caeca, 650g.
- added with 1950 ml. of distilled water and ground with Waring blender

Filtrate (A), 2100 ml. | Precipitate
- filtered through a layer of celite on a Buchner funnel

Filtrate (B), 1900 ml. | Precipitate
- adjusted to pH 5.0 and then added with Amberlite XE-64, 190 g., buffered with M/20 acetate buffer at pH 5.0, after stirring for 10 min., centrifuged

Enzyme-adsorped resin | Supernatant
- washed five times in 1700 ml. of M/100 acetate buffer at pH 5.0 for removal of amylase

Proteinase-adsorped resin | Supernatant
- (1) eluted with 400 ml. of M/5 phosphate buffer at pH 7.5, adjusted to pH 6.2 by 10 N NaOH, then centrifuged
- (2) eluted again with 600 ml. of the same buffer, centrifuged

Elute 1 (C), 360 ml. | Resin

Elute 2 (D), 560 ml.
- added with ammonium sulphate to 0.8 satn. (pH 7.0～7.2) to Elute 1+Elute 2, held at 0°C. for one day

Precipitate | Filtrate
- washed with 0.8 saturated ammonium sulphate soln., then dissolved in 60 ml. of distilled water, and then filtered through celite

Filtrate | Precipitate
- dialyzed against M/1000 KH_2PO_4 soln. (pH 7.0～7.2) at 2～3°C. for 3 days, then filtered through celite

Filtrate (E), 120 ml. | Precipitate
- added with acetone to 80% at −5～−10°C., held at 0°C. for one day

Precipitate | Supernatant
- washed with cold 80% acetone, and dissolved in 5.5 ml. of distilled water, then added with acetone so as to get slight turbidity, and held at 0°C. for two weeks

Crystal (F), 15 mg.

要　　約

イオン交換樹脂 amberlite IRC-50 (XE-64) を用いて鮪幽門垂から結晶 proteinase を調製した。

はじめ amberlite XE-64 による proteinase, amylase 吸着に対する pH，イオン交換樹

Table 1. Activities of fractions of proteinase.

Hrs. of hydrolysis	A	B	C	D	E*	F
1	0.075	0.08	0.09	0.06	0.08	0.10
2	0.10	0.14	0.19	0.11	0.10	0.15
3	0.13	0.18	0.21	0.16	0.15	0.16
6	0.21	0.22	0.28	0.17	0.16	0.17
20	0.40	0.45	0.44	0.37	0.40	0.28

Figures denote m*l*. of N/100 alcoholic KOH.
*E in Fig. 7 was diluted to 1/5.

Table 2. Yields and specific activities of fractions of proteinase.

	A	B	C	D	E	F
Volume (m*l*.)	2100	1900	360	560	120	75
Total protein N (mg.)	1002.5	525	39.3	39.9	55.6	2.29
Total proteinase unit	210000	202666	43200	44800	64000	10000
Yield (%)	100	96.5	20.6	21.3	30.5	4.8
Specific activity	209	386	1099	1123	1151	4367
Ratio of specific activity to A	1	1.8	5.3	5.4	5.5	20.9

脂量の関係および吸着 amylase, proteinase の溶出などを検討した後, IRC-50 を用いてクロマトグラフィを行い, その結果を分析し, proteinase および amylase を各々単一のピークとして分離しえた。

以上の結果に基ずき Batchwise 法により proteinase の結晶化を行つた。すなわち磨砕幽門垂の3倍量水抽出液を硅藻土沪過して透明酵素液とし, amberlite XE-64 (pH 5.0) を用いて酵素を吸着させ, adsorbate から M/100 acetate buffer (pH 5.0) で amylase を除去後, M/5 phosphate buffer (pH 7.5) により proteinase を溶出させ, 以後硫安塩析, 透析, アセトン沈澱等を経て結晶 proteinase をえた。収量は原液に対し 4.8%, 比活性度は 20.9 倍であり, 収量は前報による場合の約3倍に増加した。

文　　献

1) C. H. W. Hirs, S. Moore, W. H. Stein: *J. Biol. Chem.*, **200**, 493 (1953). *J. Am. Chem. Soc.*, **73**, 1893 (1951).
2) P. W. Talboys: *Nature*, **166**, 1077 (1950).
3) H. H. Tallan, W. H. Stein: *J. Am. Chem. Soc.*, **73**, 2976 (1951). *J. Biol. Chem.*, **200**, 507 (1953).
4) C. H. W. Hirs: *J. Biol. Chem.*, **205**, 93 (1953).
5) S. Paléus, J. B. Neilands: *Acta Chem. Scand.*, **4**, 1024 (1950).
6) J. B. Neilands: *J. Biol. Chem.*, **197**, 701 (1952).
7) E. Margoliash: *Biochem. J.*, **56**, 535 (1954).
8) B. Hagihara: *Ann. Rep. Sci. Works Fac. Sci. Osaka Univ.*, **2**, 35 (1954).
9) F. Yoshida: *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, **22**, 32 (1957).
10) T. Mizunuma, N. Iguchi: *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, **22**, 35 (1957).
11) B. Hagihara, H. Matsubara, M. Nakai, K. Okunuki: *J. Biochem. Japan*, **45**, 185 (1958).
12) 福本寿一郎・山本武彦・市川和宏: 農化, **31**, 331 (1957). **32**, 230 (1958). **33**, 9 (1959).
13) 斗ケ沢宣久・勝又悌三: 本誌, **25**, 122 (1959).
14) 斗ケ沢宣久・勝又悌三: 本誌, **23**, 157 (1957).
15) 斗ケ沢宣久・勝又悌三: 本誌, **23**, 164 (1957).
16) O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, R. J. Randall: *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951).
17) 萩原文二: 赤堀四郎編, "酵素研究法" I, 166 (1955).

抄　　録

北海のニシン漁業　PEKOE: *World Fishing,* **5** (8), 67〜71 (1951).　　ここ10年間に北海および その近辺のニシン漁業とそのストックに大きい変化が起つた。最も重大なことは，北海のニシンの減少で，これは魚群探知機の使用によるものとされている。10年間にわたる魚探機の使用により，ニシン漁業には二つの傾向があらわれた。すなわち中層トロールのような能率的漁業の発達と，若年群と産卵群に対する漁獲の集中化である。北方の深層ではニシンは日中は 75 尋の水深にいることが魚探機により発見され，中層トロールはこの群をねらつて成功した。イギリスの流し網は次第にトロールに駆逐されたが，なお，オランダ，ドイツ，ノールウエイでは流し網は重要な漁業として存続している。これはニシンの習性によるもので，北海の摂餌群や産卵群は，24時間中に三段階の浅深移動を行い，日中は海底近く，夕方は比較的小さい濃密群となり浮び，夜間は群をみだし水面近くに浮上する。夜間水面近く浮上した魚群は流し網で容易に漁獲される。しかしトロール，流し網が共存するためには，トロールはニシンの産卵場で操業し，流し網はそれ以外の地点で操業することが望ましい。さらに濫獲の傾向として，1951年以来若年魚が多く水揚され，その大多数が産卵前であり，産卵場でとられた3才魚も産卵以前であつた。このことは成熟群になるべき魚が少ないため不健全なストックの状態であることを意味している。(井上)

魚の致死要因としての筋活動　E. C. BLACK: *J. Fish. Res. Bd. Canada,* **15** (4), 573〜586 (1958).
著者は多くの研究者の論文を総説的に取扱つて，激しい筋活動の結果起る魚の死因を論じている。ヘモグロビンの酸素結合力の乳酸による減少: GREEN and ROOT ('33) は乳酸の著しい影響としてヘモグロビンの O_2 結合力が減少することを，VON BUDDENBROCK ('38) は激動による瀕死の魚の O_2 結合力は健常魚の 33〜61% に減じたことを，また SECONDAT ('50) は活潑な 15 分の筋運動後，鯉血の O_2 結合力は 62.5% に至つたことを示した。BLADE and IRVING ('38) は O_2 結合力の減少の外，赤血球が破壊されることを認め，BLACK ('57) は破壊されたときの乳酸量は 400 mg%，PARKER and BLACK ('58) はマスノスケの場合でその倍以上の乳酸量だつたと述べている。血液乳酸，pH，炭酸塩の活動による変動: AUVERGUAT and SECONDAT ('42) は鯉血について運動前後の pH と CO_2 の変動について述べている。BLACK *etal* ('58) は Kamloops trout の pH について，水素イオン濃度の最低は最大浮氷率の下降と一致することを認めた。NAKATANI ('57) は激動後 Steelhead trout の血漿と筋組織に無機燐酸の明かな増加のあることを示した。また FELTON ('56) は，クレアチンと無機燐酸が増加することを述べ，DUBUISSON ('39) は筋肉の水素イオン濃度は運動後増加し，つぎに減じ，さらに増加すると述べている。淡水で疲労した魚を塩水に移すと斃死は顕著に減少したが，これはつぎのように解釈される。(LITT '54; BATE and VINSONHALER, '57; BLACK '57). ① 魚が失つた Osmotic balance を回復すること，② 筋運動に必要な塩がとられたこと，③ 血液から水素イオンが Na あるいは他の金属イオンと交換したこと。水素イオン濃度に関する限り，その最大値と魚の死との間には関係がないようで，死は CO_2 量が落ち乳酸量が上つた時に起ると見做される。人間では運動後高まつた乳酸は 50〜60 分静止すると回復するが，魚では静止後4時間まで増加し，8〜12 時間に至つても運動前の乳酸量にもどらない。エネルギー源の消耗: 筋活動による魚の死は A. T. P.，クレアチン燐酸，特にグリコーゲンおよび pyrvic acid を含んだ中間化合物等のエネルギー源を，完全に消耗することによつて起りうるものである。FELTON ('56) は Steelhead trout の運動によるクレアチンと無機燐酸の増加を測定し，NAKATANI ('57) は，運動後急に筋肉中に無機燐酸や乳酸塩の増加することを追求した。しかし A. T. P.，クレアチン燐酸およびグリューゲン等の消耗度合を述べた研究はみられない。筋疲労産物の有害な影響: BLACK ('57) は激しい筋運動によつて，心機能の低下することを認め，また，心電図計からも的確に実証した。REDFIELD and MEDEARIS ('26) は，運動したトカゲの心機能は乳酸量が増加した時に低下したことを示した。以上から，的確な死因は不明であるが，乳酸の蓄積による acid base の障害が主なものだろうと著者は述べている。(佐野)

蚊 *Chironomns plumosus* 幼虫のヘモグロビン量　P. A. KORZHUEB, L. I. RADZINSKAIA: *Vopr. Ixtiol.* **10**, 139〜143 (1958).　　キロノマス幼虫のヘモグロビン量をピラミドン法によつて定量し，稚魚のヘモグロビン量と比較してつぎの結果をえた。稚魚の体重1kg 当りのヘモグロビン量は 0.5〜2.5g (KORZHUES と NIKOL'SKAIA, 1951)，キロノマス幼虫のヘモグロビン量は 30g であるからキロノマス幼虫は稚魚のヘモグロビン水準を約 12〜60 倍越えている。このように多量のヘモグロビンを，キロノマス幼虫が持つていること，本虫のヘモグロビンが酸素に対する高い親和力（酸素量 0.001 cm^3/l，水銀柱 0.2mm の水中酸素圧下で 50% 飽和する）を有することによつて本幼虫は非常に酸素量の低い環境でも生存しうるのである。実験に用いられた幼虫は 34.8〜59.8 mg，1.8〜2.4 cm，採取された血液リンパ量は 5.0〜20.0 mm^3 であつた。(佐野)

カラフトマスとサケの産卵床の構造の適応的な意義について VASILIEV, I. S.: *Zhurnal Obschei Bialogii*, **XX** (2), 155～160 (1959). これら両種の産卵床の構造状況を調べると，産卵床は両種共通して広い表面積と大きい埋設深度を有している。また酸素条件をみると，産卵床となつている部分の酸素量は隣接する部分の河床に比べて明瞭に多くなつている。なお産卵床の内部をみると，卵は深層部に存在するが，その部分の酸素量は中層部に比べてかえて多い。このことは魚の掘さく行動の結果として礫の組成が中層よりも深層の方で一層粗くなつている事実と関連している。このことによつて埋設深度を大きくすることが可能になつている。そして一方深く埋設することは食害，凍結，干出から防護に役立つている。このほか，産卵床の準度条件等を検討すると，両種の産卵床の構造が卵発生に有利な条件を保証する方向への適応を示していることがわかる。(児玉)

鮭肝臓中の酸可溶性 *Nucleotide* H. TSUYUKI, VIOLET M. CHANG and D. R. IDLER: *Can. J. Biochem. Physiol.*, **36**, 465～473 (1958). 鮭肝臓中の酸可溶性 nucleotide を分析するために，海産マスノスケ *Oncorhynchus tschawytscha* の肝臓を捕獲後直ちに抜きとり dryice で凍結し，磨砕後過塩素酸で抽出した。抽出液を中和してから凍結乾燥法により濃縮し，Dowex 1 を用いた HURLBERT 等の gradient elution 法 (*J. Biol. Chem.*, **209**, 23 (1954)) により低温 (0°C) カラムクロマトグラフィーを行い，A より J までの 10 分劃をえた。各分劃をさらに蟻酸-蟻酸アンモンの溶媒系を用いた Dowex 1 によるカラムクロマトグラフィーまたはペーパークロマトグラフィにより分析し，E 以外の分劃よりつぎの諸物質が見出された。diphosphopyridine nucleotide, guanosine-5′-phosphate, adenosine-5′-phosphate, succinoadenine, hypoxanthine, uracil, uridine-5′-phosphate, inosine-5′-phosphate, adenosine-5′-diphosphate, guanosine-5′-diphosphate, adenosine-5′-triphosphate, uridine-5′-diphosphate galactose, uridine-5′-diphosphate glucuronic acid, uridine-5′-diphosphate acetylglucosamine および 4 つの不明の成分。分劃 E はペーパークロマトグラフィーによりさらに E_1, E_2 および E_3 の 3 成分にわかれ，E_2 はその約 80% を占め，これまで知られなかつた nucleotide で，succinoadenine, ribose, phosphate, sulphate がそれぞれ等モル数含まれ，glutamic acid と serine からなる peptide がこれに結合している。succinoadenine や succinoadenylic acid は酵母その他の微生物や哺乳動物肝臓および鱈肝臓に見出されているが，これらは室温で分析したための分解生成物と考えられる。E_1 と E_3 については現在研究中である。なお，魚類肝臓中の uridine-5′-diphosphate 誘導体は他の補酵素としての機能に加えて，inositol を酸化的に開環して glucuronic acid に導くものと推定される。(岡市)

南アフリカ産イワシ油—VII. C_{18}-テトラエン酸の単離とその構造 M. MATIC: *Biochem. J.* **68** (4), 692～695 (1958). 南アフリカ産イワシ (*Sardina ocellata*) よりえた油の脂肪酸メチルエステルの分子蒸溜々分をさらに 3 回蒸溜を繰返し精製し試料とした。逆相分配クロマト分析の結果この試料は 4 つの fraction にわかれたが，その内第 1 および第 4 fraction はそれぞれすでに報告した C_{16}-テトラエン酸および C_{20}-ペンタエン酸よりなつていた。第 2 fraction は C_{16} および C_{18} 酸の混合物で未確認の C_{16}-トリエン酸を主成分としている。第 3 fraction は特数および紫外赤外の吸収スペクトルを測定し，さらに水素添加した飽和酸につき特数，炭素鎖の長さ，X 線分析における長面間隔等を測定した結果 C_{18}-テトラエン酸であることが確認された。またオゾン酸化生成分よりはマロン酸，アヂピン酸，痕跡のグルタール酸が検出され，CrO_3 酸化では酢酸およびプロピオン酸が検出された。また試料より合成した高級同族体のオゾン酸化ではマロン酸，ピメリン酸と痕跡のアヂピン酸が検出された。以上の結果およびアルカリ異性化後のスペクトルより第 3 fraction は約 90% が all-*cis*-octadeca-6: 9: 12: 15-tetraenoic acid で残りの 10% が C_{16}-トリエン酸および C_{20}-ペンタエン酸であることを確認した。(衣巻)

海産物のステリン類—V. ヒトデより 7, 24 (28)-Ergostadien-3β-*ol* の単離 U. H. M. FAGERLUND and D. R. IDLER: *J. Am. Chem. Soc.*, **81** (2), 401～403 (1959). ヒトデのステリンは Δ^7-ステリンを主成分とするが，Δ^7-ステリンは Δ^8-ステリンと Δ^5-ステリンの中間体と考えられ，高等動物における Δ^5-ステリンすなわちコレステリンの発生および代謝の問題を研究する手掛りとして Δ^7-ステリンの研究が重要となつてきた。著者等はヒトデの 1 種 *Pisaster ochraceus* の油の不鹸化物より粗ステリンを分離し，ついで *p*-phenylazobenzoate となし珪酸-セライト塔によるクロマト法で分別することにより結晶を単離することができた。この結晶より分離した遊離ステリンおよびアセテイト，ベンゾエイトの性状はそれぞれ m. p., 131°, 140°, 160°; $[\alpha]_D$, +6.4°, +6.0°, +11.9°; M_D, +23.9°, +28.2°, +58.0° であつた。アセテイトの鹸化当量よりこのステリンは C_{28} 系列に属するものでさらにオゾン分解の生成物の検索と赤外スペクトルの結果より，メチレン基の存在が明かにされた。また7-位置の二重結合は分子旋光度および過安息香酸の滴定値より，8(14) 位置の二重結合は接触還元および改良 Liebermann-Burdhard 反応の結果より確認された。また末端のメチレン基は鉱酸による異性化後オゾン分解する方法により 24(28)-位置にあることがたしかめられた。以上の結果を綜合して著者等は

このステリンは 7, 24 (28)-Ergostadien-3β-ol と確認した。(衣巻)

高温ペーパークロマトグラフィーによるアミノ酸の迅速定量 J. B. HIMES and L. D. METCALFE: *Anal. Chem.*, **31** (7), 1192〜1194 (1959). アミノ酸混液および蛋白加水分解物中のアミノ酸を定量する従来の方法より迅速なるものとして，ペーパークロマトグラムの展開が高温度によつてはやめられることを利用し，高温ペーパークロマトグラフィーの方法を提案している。すなわち僅か 2 時間の展開時間で誤差 ±10% 以内で定量でき，装置ならびに操作法も展開中の温度平衡を保つ以外は簡単である。そのため装置は小型のステンレススチール製の水平型パンを用い，内部にガラス槽を入れ，沪紙を水平においてガラス板で密閉できるようになつている。試料は 1N HCl で塩酸塩にしておき，展開はメチルエチルアセトン，プロピオン酸，水 (15: 5: 6) の溶媒を用い，60°C で 2 時間行う。沪紙は Whatman No. 1 を用い，展開後一定時間風乾し，0.2% ニンヒドリン+1% 酢酸のアセトン溶液中に漬け，60°C で一定時間乾燥後スポットの呈色度を densitometer で測定する。アミノ酸含量は未知検体と既知アミノ酸を同時に行つて沪紙上の既知アミノ酸量と検体の全量および既知アミノ酸と検体の吸光度から求まる。実例として牛血液とひよこの羽毛について MOORE-STEIN 法と比較して満足すべき結果をえている。(平野(敏))

牛肉貯蔵におけるクロールテトラサイクリン (CTC) の作用形式 J. M. JAY, H. H. WEISER, and F. E. DEATHERAGE: *Applied Microbiol.*, **5** (6), 400〜405 (1957). 肉類に存在する多くの細菌のうちには CTC 耐性を示す菌がしばしば見出される。例えば *Proteus vulgaris* のある菌株は100 p.p.m. という高い CTC 濃度を用いないと繁殖が阻止できない。ところが同じ菌株でも牛肉中では 3 p.p.m. という低い濃度で繁殖が阻止される。そこで種々のイオンについて，それらが CTC の効果を打消す能力があるかどうかを実験した。その結果によると，タングステン酸塩が最も効果があり，ついでモリブデン酸塩，Mg^{++}, Ca^{++}, 硼酸塩，珪酸塩，Sr^{++}, Ba^{++} の順であつた。これらイオンの CTC に対するモル比はタングステン酸塩の 8: 1 から Ba^{++} の 1660: 1 の範囲にあつた。牛肉中においてはこのモル比が約 20 倍も高くなる。Co^{++}, Fe^{++}, Fe^{+++}, Cu^{++}, Ni^{++}, Zn^{++}, Cr^{++}, NH_4^+, アミノ酸類，ビタミン類，有機酸，核酸，糖類などには CTC の効果を打消す能力は認められなかつた。これらの結果からこの異常現象は CTC と微生物が必須イオンをうばい合うためであろうと考えた。(横関)

牛肉中における CTC 耐性菌の研究 J. M. JAY, H. H. WEISER and F. E. DEATHERAGE: *Applied Microbiol.*, **6** (5), 343〜346 (1958). 牛肉中より分離した *Proteus* および *Pseudomonas* のある菌株は CTC に対し，完全培地中で耐性を示すが，牛肉中では阻害を受ける事実を先に報告した。これら耐性菌を CTC で処理した生肉と加熱肉に接種してみたところ，生肉中では CTC により発育が阻止されるに反し，加熱肉では菌が増加して腐敗した。肉の抽出液についての実験でも CTC の効果は明かに認められる。この抽出液を加熱した後に CTC を加えた実験でも，90°C 以下の加熱では CTC はよくこれら耐性菌の発育を阻害するが，100°C 以上に加熱すると，CTC は効果を示さなくなる。また肉の 0.9% 食塩水抽出液についても同様に効果が表われなかつた。新鮮肉の抽出液中より多少時間の経つた肉の抽出液中の方が CTC の効果は劣る現象がみられた。これらの実験結果から，牛肉と培地を用いた場合における CTC の効果の相異を完全に解明することはできないにしても，細菌の栄養物質の存否に関係があるように思われる。(横関)

0°F 貯蔵のタラ肉の冷蔵貨車輸送について W. J. DYER, D. I. FRASER, D. G. ELLIS and W. A. MAC CALLUM: *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **14** (4), 627〜635 (1957). 冷蔵貨車の貯蔵温度が冷凍タラ肉の品質におよぼす影響を明かにするためつぎのごとき基礎実験を行つている。試験品はタラフィレー1封度をろう引箱に包装し，この 24 個をボール箱 (12³/₄×9×8¹/₂ 吋) に詰めたものである。最初 0°F に貯蔵し，それぞれ 1, 3, 6, 9 カ月後に 15°F に 2 週間放置し，その後再び 0°F に貯蔵した場合および 15°F 2 週間放置を 2 回を行なつた場合についての品質変化を食味検査と蛋白質の抽出量より判定した。その結果によると，可溶性アクトミオシン量は 15°F に放置することによりいずれの場合でも 0°F に貯蔵した対照試料より著しく減少することが認められた。食味検査では対照は約 9 カ月で不適当と判断されたが，1 回 15°F に放置したものは放置直後で等級は約 10% 下り，貯蔵可能期間は約 7¹/₂ カ月であつた。15°F 放置を 2 回行うと，等級は約 20% 低下し貯蔵可能期間も 6〜6¹/₂ カ月となつた。以上の結果より現在の +15°F 附近の冷蔵貨車輸送は適当でないことが判る。しかしさらに +15°F 附近の温度における放置期間，−10°F に貯蔵した場合，原料魚の鮮度，魚の種類等の因子については検討の必要がある。(尾藤)

0°F 貯蔵のタラ肉の冷蔵貨車輸送について (続) W. J. DYER, D. I. FRASER and W. A. MAC CALLUM: *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **14** (6), 925〜929 (1957). 前報 (W. J. DYER *et al.*: *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **14** (4), 627〜635, (1957) に引きつづきタラフィレーを 0°F に 1 カ月および 3 カ月貯蔵後 15°F に 3 日，1 週間，2 週間放置し，再び 0°F に貯蔵した場合の品質変化を調べた。その結果によると，15°F に放置した期間の長さに並行して品質が低下し，15°F に 2 週間放置した場合は 2〜2¹/₂ カ月，1 週間放置では約 2 カ月，3 日放置で

は約$1\frac{1}{2}$カ月だけ0°F貯蔵の対照より貯蔵期間（食品として可能な期間）が短縮された。なお当初より15°Fに継続放置した試料は約4カ月貯蔵可能期間が短くなつた。この場合，15°F放置の影響は放置後約1週間以内に起り，その後0°Fは継続放置と同じ傾向をたどり品質が低下した。15°F放置前の0°F貯蔵期間（1カ月と3カ月）は15°F放置の品質低下にはほとんど影響をおよぼさなかつた。（尾藤）

魚肉に対する *Pseudomonas* の作用 3. 果実臭およびねぎ臭を生成する微生物について C. H. CASTELL, M. F. GREENOUGH and J. DALE: *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **16** (1), 13～19 (1959).

氷蔵した魚の初期腐敗臭のうちで，とくに果実臭やねぎ臭を産生する20株の *Pseudomonas* の性質を調べた。この菌は数種の糖より酸を生成するが，蛋白分解，トリメチルアミンオキサイド還元，尿素分解，硝酸塩還元，インドール形成，硫化水素生成等の作用がない。諸性質より *Pseudomonas fragi* と同定した。さらに至適pHは普通寒天培地で7.0～8.8にあり，至適温度は魚肉培地で5～10°Cである。食塩濃度は1～3%で最もよく，7%以上の濃度では全く抑制される。この菌に対する抗生物質の作用は，chlortetracycline, tetracycline が最も強く，oxytetracycline, streptomycine がこれにつぎかつこの菌は他の腐敗細菌とくらべ低濃度で抑制される。しかし亜硝酸塩では高濃度(100～500p.p.m.)においてのみ抑制される。この菌は土壌や酪農工場の給水設備に広く分布している菌であり，著者等はタラ，ハドック，ヒラメ，オヒョウの果実臭を生ずるフィレーやステーキからこの菌を分離している。（尾藤）

クレアチニンの一定量法 M. X. SULLIVAN and F. IRREVERRE: *J. Biol. Chem.* **233** (2), 530～534 (1958). 1, 4-naphthoquinone-2-potassium sulfonate によるクレアチニンの比色定量法を，既往の Jaffe-Folin のピクリン酸法および Benedict-Behre の3, 5-ジニトロ安息香酸法と比較検討した。クレアチニン 0.125 mg/ml を含む 0.1N HCl 溶液 2ml に，新に調製した 1, 4-naphthoquinone-2-potassium sulfonate 2% 水溶液 1ml，95% エタノールに溶かした 1% α-ナフトール 0.6ml，N NaOH 1ml を加え，2～5分静かに振盪した後，90% 蟻酸 2ml，濃 HCl 2ml を加え冷却し，塩化メチレン 3～5ml を加え激しく振盪する。静置または遠心分離して沈んだメチレン層を取り，その紅色を測定する。メチレンは揮発性なので，小型の分液沪斗を用いて反応を行なうとよい。アミノ酸類，クレアチンおよびクレアチニン誘導体は全く発色しない。インドール，アセトンはオレンジ色を呈するがこれらは予じめトルエンで抽出して除けばよい。発色の特異性は Jaffe-Folin 法および Benedict-Behre 法よりも優れたものである。血液および尿のクレアチニンを定量した結果，この方法は，J-F 法よりやや低く，B-B 法よりやや高い測定値を与えた。（永山）

凍結および低温貯蔵のミトコンドリアの酸化的フォスフォリレーション C.A. PRIVITERA, D. GREIFF, D. R. STRENGTH, M. ANGLIN and H. PINKERTON: *J. Biol. Chem.* **233** (2), 524～527 (1958).

生物体の生化学的活性に対する凍結および低温貯蔵の効果を明かにするために，肝臓ミトコンドリアを用いて，凍結方法，凍結温度，貯蔵温度，凍結-融解の反覆等種々の条件を与えて，酸化的フォスフォリレーションを定量的に観察した。凍結温度は −20°（氷，塩），−40°（アセトン，ドライアイス），−63°（クロロホルム，液体空気），−78°（アルコール，ドライアイス），−94°（アセトン，液体空気），−192°（液体空気）の6区とし，融解は 30°C のバスで行つた。解凍後の酸化的フォスフォリレーションの P: O 比は，いずれの温度でも緩慢凍結したものの方が，急速凍結したものよりも大きかつた。−192° で緩慢凍結し −192° に 120 時間貯蔵したものは P: O 比の減少は起らないが，−40° に貯蔵したものでは P: O 比は0になつた。凍結，融解の反覆は P: O 比に変化を与えなかつた。ミコンドリアのフラクションによつて生化学的活性を失い難いものがあつたが，これは共存蛋白質による保護作用によるものと思われる。（永山）

肝臓アルドラーゼ I. 分離，結晶および一般的性質 R. J. PEANASKY and H.A. LARDY: *J. Biol. Chem.* **233** (2), 365～370 (1958). 擂潰した肝臓 1050g を冷 0.15M KCl 4倍容に投じ 0.5N NaOH で pH 7.6 にする。沪液 4300ml に KCl 26g を加え，−23° のバスに入れ −10° のメタノールを 32% (v/v) まで加え，20分後沪過し，沪液 5460ml に −40° のメタノールを 40% まで加え吸引沪過する。沪液 6750ml を −19° にしメタノールを 61% まで加え沪過して沈澱を集める。沈澱を 0.3M KCl で2回抽出しえた沪液 2370ml を 5N NH_4OH で pH 9.6 にし，メタノール 10% にする。これを 41.5° のバスに 75 分漬け，冷却 (0°) し沪過する。沪液 2460ml を pH 9.6 にし，水酸化アルミゲルを加え，30 分後 2000×g で遠沈し，沈澱をとり，上澄にアルミゲルを加え 30 分後で遠心分離しゲルを集める。ゲルを 0.4 飽和硫安で洗い，pH 7.3 にし pH 7.3 の 0.4 飽和硫安で2度抽出し，遠心分離した沈澱部は捨て，液 280ml を pH 5.4 にし，硫安 0.72 飽和にし 30 分後 25,000×g で沈澱を集め，pH 7.3 の 0.4 飽和硫安 70ml にとかし，0° に 4～8 時間保つ。針状結晶が生ずるから，これを 0.1 飽和硫安にとかし，0.39 飽和で再結する。フラクトース-1,6-ジ燐酸分解の至適 pH は 9.1～9.4，フラクトース-1-燐酸分解の至適 pH は 8.1～8.4 であり，結晶の活力は 648U/mg であつた。（永山）

会誌 論文集 合本用ファイル (B5判) 実費頒布御通知

昭和三十四年九月二十日 印 刷
昭和三十四年九月二十五日 発 行

第二十五巻 第五号

本号定価 140 円
(送料別)

編集兼発行者 久 保 伊 津 男
東京都港区芝海岸通り6丁目 東京水産大学内

発 行 所 日 本 水 産 学 会
東京都港区芝海岸通り6丁目 東京水産大学内
振 替 口 座 東 京 59529番
電 話 (45) 2200番

印 刷 者 笠 井 康 頼

印 刷 所 株式会社 国際文献印刷社

発 売 所 株式会社 国際文献印刷社
東京都新宿区山吹町184
電話 (34) 7446

STUDIES ON THE KINEMATIC BEHAVIOUR OF THE GROUND ROPE OF THE TRAWL NET—I.

Tasae KAWAKAMI and Otohiko SUZUKI*

(Received July 13, 1959)

It is said that the fishing capacity of trawl nets has markedly improved since the Vigneron Dahl type modification was introduced. This type of gear has a pair of ground ropes (often called "hand rope" in England) which sweep over the sea bottom and which are believed to drive the fish toward the net while in operation. Other types of bottom trawl, such as Danish seine and two-boat trawl, always have two parts in their tow rope, i.e., a sweeping rope and a towing warp. This sweeping rope seems to effect the same results as the ground rope in the Vigneron Dahl gear. This means that fishermen have empirically known the rôle of sweeping rope acting as chaser. It may be desirable, from this point of view, to know, even in rough presumption, how the mode of its motion is.

On the other hand, the force that acts on the net is transmitted through the tow-rope from the vessel, and the kinematic behaviour of the net is governed mainly by this force. Hence the mechanical studies of the sweeping rope have also bearings in this connection.

Theoretical Consideration

The following law of force acting on the moving ground rope is assumed. The external force is considered to consist of two parts, i.e., the hydrodynamic force due to the relative velocity between the rope and the water, and the frictional force between the rope and the sea bed. The former may be negligibly small as compared with the latter, since the movement of rope is usually very slow. It is assumed, moreover, that the magnitude of the frictional force is independent of the speed of the rope and of the angle that the rope makes with the direction of motion. Let K_n and K_t be respectively the nor-

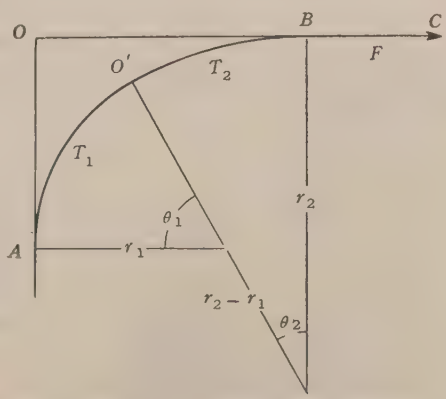


Fig. 1. Schematic representation of laying and towing of the sweeping rope.

* Dept. of Fish. Kyoto Univ., Maizuru, Japan. (川上太左英・鈴木乙彦, 京大水産)
This study was supported partly by the grant from the Ministry of Education.

mal and the tangential components of the frictional force per unit length of the rope. However, the frictional resistance falls off suddenly when the direction of rope coincides exactly with that of motion.

In this paper, we shall consider the case where the rope is placed on the sea bottom such that at a point O on the rope it turns perpendicularly as shown AOB in Fig. 1. Suppose that the end B is towed to a point C, then the rectangular apex O may be round off and the shape AOB will be transformed into a smooth curve AO′BC, the curvature of which will vary gradually with distance along the arc according to the variation of tension in the rope. Here, in order to simplify the problem, let this curve be approximated by two circular arcs AO′ and O′B, having different radii of curvature, r_1 and r_2 respectively. Thus if we denote the angle at the centre of the circular arc AO′ by θ_1, and O′B by θ_2, then

$$\mathrm{AO'} \equiv s_1 = r_1\theta_1 , \tag{1}$$

$$\mathrm{O'B} \equiv s_2 = r_2\theta_2 . \tag{2}$$

The magnitude of θ_1 may be arbitrary, but it is desirable to choose it such that the lengths of the both arcs are as equal each other as possible. Experiments showed that $\theta_1 = \pi/3$ satisfies this requirement.

Next, we have geometrically,

$$\mathrm{AO} \equiv a_1 = r_2 - (r_2 - r_1)\sin\theta_1 , \tag{3}$$

$$\mathrm{OB} \equiv a_2 = r_1 + (r_2 - r_1)\sin\theta_2 . \tag{4}$$

Then the towed distance $l(=\mathrm{BC})$ is given by

$$l = (a_1 + a_2) - (s_1 + s_2) . \tag{5}$$

Let T_1 and T_2 be the respective average values of tension of rope in the arcs AO′ and O′B, and let F be the towing force at the terminal point C, then we have approximately

$$\frac{T_1}{r_1} = \frac{T_2}{r_2} = K_n , \tag{6}$$

$$T_2 - T_1 = \frac{1}{2} K_t (s_2 + s_1) , \tag{7}$$

$$F - T_2 = \frac{1}{2} K_t s_2 . \tag{8}$$

The solutions of these equations are:

$$\sigma_i \equiv s_i/l = \rho_i\theta_i ,$$

$$\rho_1 \equiv r_1/l = (1 - \nu\theta_2)/\Lambda ,$$

$$\rho_2 \equiv r_2/l = (1 - \nu\theta_1)/\Lambda ,$$

$$\alpha_1 \equiv a_1/l = \rho_2 - (\rho_2 - \rho_1)\sin\theta_1 ,$$

$$\alpha_2 \equiv a_2/l = \rho_1 + (\rho_2 - \rho_1)\sin\theta_2 ,$$

$$\tau_i \equiv T_i/F = (r_i/l)(lK_n/F) \equiv \rho_i \kappa_n ,$$

$$\kappa_t \equiv lK_n/F = 2\nu\kappa_n = 2\nu/[\rho_2(1+\nu\theta_2)] .$$

Here the mathematical symbol($\equiv$)signifies a definition, suffix i represents either figure 1 or 2, and the following substitutions are made:

$$\Lambda \equiv (1-\sin\theta_2+\sin\theta_1-\theta_1)(1-\nu\theta_2)+(1+\sin\theta_2-\sin\theta_1-\theta_2)(1+\nu\theta_1) ,$$

$$2\nu \equiv \frac{K_t}{K_n} = \frac{\kappa_t}{\kappa_n} .$$

Experiment and Results

In order to verify the theoretical consideration mentioned above, a series of experiments was made in standing water tank, using a flexible nylon twine of 3 mm. in diameter as a model of the sweeping rope. The twine was placed on the horizontal, plane sand bottom of the tank, in such a form as shown by AOB in Figs. 1 and 2. A thin nylon thread connected to one end of the twine (point C in Fig. 2) was hauled by a rotating drum D through the pulleys P and Q. The force F acting on the end of the twine, while in hauling, was measured by the elongation of the spring S which was inserted in the hauling thread, assuming that the resistance of the nylon thread is negligible.

The end of the twine was towed until the deformation propagated to its other end. During the towing the tension F and the towed distance l were measured at regular intervals. The first two experiments were made with a towing interval of 4 cm. and the last experiment with a interval of 8 cm. Thus the patterns of the twine in successive stages were photographed from the top. The values of a_i and r_i were determined diagramatically in relation to the towed distance l for each stage. Then the values of K_n and K_t are computed by the following relations, which are obtained from the equations (6), (7) and (8):

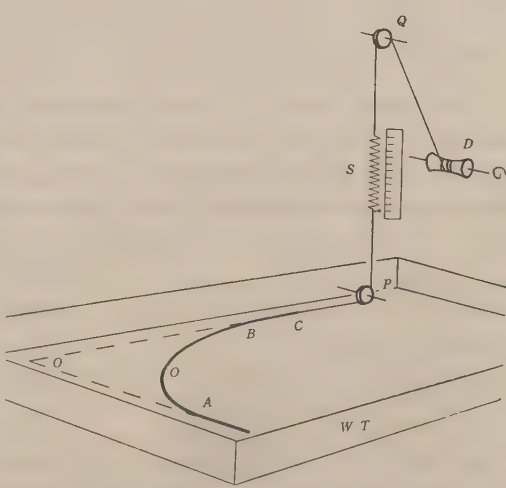


Fig. 2. Sketch of the experimental apparatus. AO′BC, sweeping rope; D, rotating drum; P and Q, pulley; S, spring; WT, water tank of sand bottom.

$$K_n = \frac{F(2r_1 + r_2)}{r_2(2r_2 + r_1)} ,$$

$$K_t = \frac{F - r_2 K_n}{(\pi/12) r_2} .$$

The results obtained are listed in Table 1.

Table 1. Normal and tangential components of the frictional force

		K_n	K_t	2ν
1st Exp.	No. 1	0.0059 g./cm.	0.0042 g./cm.	0.71
	No. 2	0.0061 〃	0.0041 〃	0.67
2nd Exp.		0.0046 〃	0.0035 〃	0.76

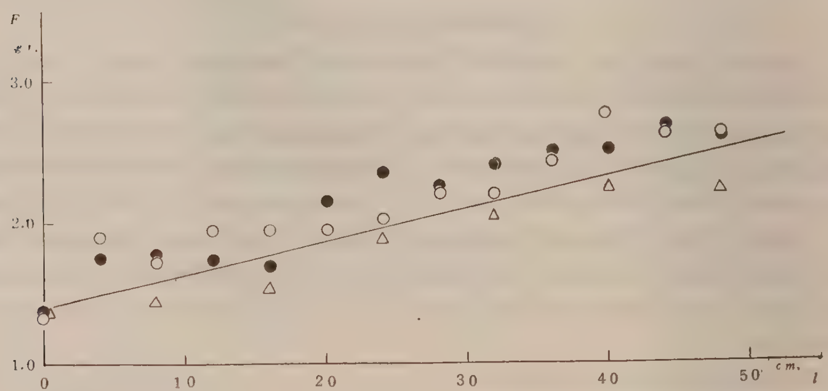


Fig. 3. The relation between F and l. ○, 1st Exp. No. 1; ●, 1st Exp. No. 2; △, 2nd Exp.

The towing force F is plotted against the towed distance l in Fig. 3, which shows the validity of the last expression of the solution, if the intersept on the F-axis ($F=1.35$ at $l=0$) is ascribed to the weight of hauling thread acting constantly on the spring. The theoretical values as well as the observed values of ρ_i and α_i are shown in Table 2.

Table 2. Theoretical and observed values of ρ_i and α_i

		ρ_1	ρ_2	α_1	α_2
Theoretical value*		1.97	3.36	2.21	2.67
Observed value					
1st Exp.	No. 1.	2.0–2.3	3.2–4.1	2.2–2.5	2.7–3.1
	No. 2.	1.9–2.3	3.1–4.3	2.1–2.5	2.6–3.3
2nd Exp.		1.9–2.2	3.4–4.0	2.2–2.3	2.8–3.0

* Using the value $\nu=0.365$

The coincidence of both values is practically satisfactory; thus the pattern of the sweeping rope can be easily reconstructed by the use of only the value of ν when the towed distance l is given.

アラビア海におけるキハダの漁獲率と分布の経年および周年変化

中込　淳

(1959 年 7 月 13 日受理)

ANNUAL AND MONTHLY VARIATION OF FISHING CONDITION AND DISTRIBUTION OF YELLOWFIN TUNA IN THE ARABIAN SEA

Jun NAKAGOME*

I studied on the annual and monthly variations of fishing condition and distribution of yellowfin tuna in the Arabian Sea.

1) The rate-of-catch (catch number per hundred hooks) of the fish was high in 1955–'56, and low in 1957–'58 and medium in 1959.

2) The rate-of-catch of the fish was high in every spring and late of autumn. Good fishing period was from March to May in 1955–'56 and May in 1957–'58.

3) The rate-of-catch of each sub-area increased and decreased with all sub-areas. Good fishing area was distributed in the eastern part in 1957–'58 and in the middle or in the western part of the Bay in 1955–'56 and 1959.

4) Good fishing area was distributed from March to May in the mouth part and the area in the inner part extended from western part for middle in the same period in 1957–'58. It has changed from the middle part for western one in the above-mentioned period in 1955, 1956 and 1959.

5) Accordingly, fishing condition and distribution in the good fishing year differ from those of the bad fishing year, and those of 1959. However, it seems that 1959 may be good fishing year in my conjecture.

緒　言

アラビア海におけるマグロはえ縄漁業は，従来ほとんど湾口部のみで操業し，10°N 以北において操業したのは 1958 年が最初で，今後さらに漁場が拡張される可能性がある。しかるに，この漁場の主対象魚種であるキハダは[1]，漁獲率が年々低下し[2]，10°N を境に湾奥部の漁獲率が湾口部の漁獲率より低い[3]という疑いがかけられている。

そこで，著者は，同海域のキハダの漁獲率と分布の経年，周年変化について調べたところ，2, 3 の傾向を発見したので，ここに報告する。

発表を許され，御指導，御べんたつ下された神奈川県水産試験場永井三夫場長に対し，衷心より謝意を表する。

資料および方法

資料は，三崎入港船については神奈川県水試，東京，焼津入港船については南海区水研が蒐集し，神奈川県水試が整理したものを分析しなおして算出したものである。

漁獲率は釣獲率（鈎 100 本当りの漁獲尾数）を用い，分布は緯，経度 5° 区画 (Fig. 1) 毎の釣獲率によ

* 神奈川県水産試験場 (Kanagawa Pref. Fish. Exp. Stat., Misaki, Miura, Kanagawa Pref.).

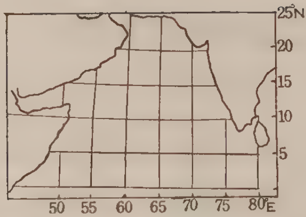


Fig. 1. Investigated sub-areas.

Table 1. Number of sample

Year	Number
1955	41
1956	53
1957	17
1958	21
1959	21*

* from January to May

り表わした。漁獲率の周年変化は緯，経度 5° 区画毎に算出した釣獲率を月毎に平均して用い，漁獲率の経年変化は上述の月毎に平均した釣獲率をさらに年毎に平均して用いた。

なお，一航海を一資料とした場合の年別資料数は Table 1 に示す。

結果および考察

1. 漁獲率の経年変化

漁獲率の経年変化は，Fig. 2 に示すように，1955, '56 年は高率，1957, '58 年は低率，1959 年はやや上昇して両者の中間となつている。

しかし，1956 年は 1~2 月と 10~12 月，1957 年と 1958 年は 1~2 月，1959 年は 1 月と 6~12 月が調査されていないので，3~9 月の平均漁獲率の経年変化と，3~5 月の平均漁獲率の経年変化をみると，Fig. 2 に示すように，やはり同様の結果となつている。ただし，1958 年の率は 1957 年の率よりやや低く，特に 3~5 月の平均漁獲率の経年変化では，1955, '56 年の率と 1957, '58 年の率との差がより大きくなつている。

また，後述するように，年によつては 5°N 以北（以下湾奥部と呼ぶ）と以南（以下湾口部と呼ぶ）とで分布が異なることがあり，湾奥部で操業しはじめたのは 1957 年以後であるので，この結果生ずる誤差を除くために，湾口部のみの漁獲率の周年変化を全海域の場合と同様に図示すると， Fig. 3 のようになる。すなわち， 1955 年から 1956 年にかけて僅かに低下， 1957 年にかけて著しく低下， 1958 年にかけて僅かに上昇，1959 年にかけてかなり上昇しており，これと比較し全海域の場合は，1955 年から 1956 年にかけて僅かに低下，1957 年から 1958 年にかけて僅かに上昇している点は異なるが，1955, '56 年が高率，1957, '58 年は低率，1959 年がこの両者の中間の漁獲率である点は全く同様である。

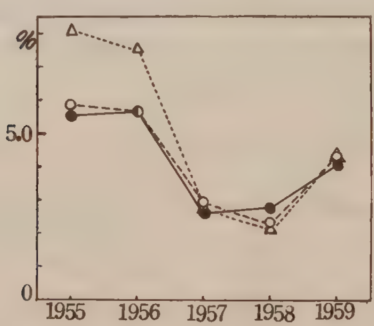


Fig. 2. Annual variations of rate-of-catch of yellowfin tuna in the Arabian Sea.
—●— whole year
- -○- - from March to September
···△··· from March to May

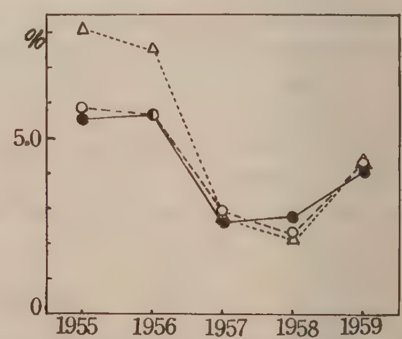


Fig. 3. Annual variations of rate-of-catch of yellowfin tuna in the mouth part (0–5°N) of the Arabian Sea.
—●— whole year
- -○- - from March to September
···△··· from March to May

したがつて，1955，'56 年は好漁年，1957，'58 年は不漁年，1959 年は両者の中間の漁獲であると考えられる。

2. 漁獲率の周年変化

漁獲率の年別周年変化を Fig. 4 に示す。同図において，1957 年の 11，12 月は，調査された 1955，1958 年の 11，12 月と異なり低率であるが，1955，1958 年の 11，12 月が湾口部の中心のみで調査されたのに対し，1957 年の 11，12 月は湾口部の東方のみで調査されているので，1957 年の 11，12 月も 1955，1958 年の 11，12 月に調査された海域と同じ海域は好漁であつた可能性が考えられる (Fig. 5)。

そこで，もし，1957 年の 11，12 月も高率であつたとすれば，漁獲率の周年変化は，毎年春季と晩秋に高率になり，周期的変化をたどつているものと考えられる。

しかし，春季の好漁期が，1955，'56 年は 3 月から 5 月にかけて高率であるのに対し，1957，'58 年は 5 月のみが高率で 3～4 月は上昇期になつている。すなわち，1955 年と 1956 年，1957 年と 1958 年はそれぞれ同変化で，1955，'56 年と 1957，'58 年とは異なつている。

1959 年は，2 月にすでに好漁期に入り，5 月にかけて僅かずつ上昇しながら好漁を続けており，1957，'58 年よりは 1955，'56 年に似た変化をしているが，各月の漁獲率は低く，1955，'56 年とも異なつている。

すなわち，漁獲率の周年変化は，好漁年の 1955，'56 年と不漁年の 1957，'58 年とで異なり，1959 年は好漁年に多少似ているが，好漁年とも不漁年とも異なつている。

3. 分布の経年および周年変化

春季の好漁期である 3～5 月の各月の分布を，好漁年の 1955 年と 1956 年とを一緒に，不漁年の 1957 年と 1958 年とを一緒にし，1959 年とともに図示すると Fig. 6 のようになる。

この Fig. 6 において，まず経年変化をみると，1955，'56 年から 1957，'58 年にかけては湾口部全般的に不漁になり，1957，'58

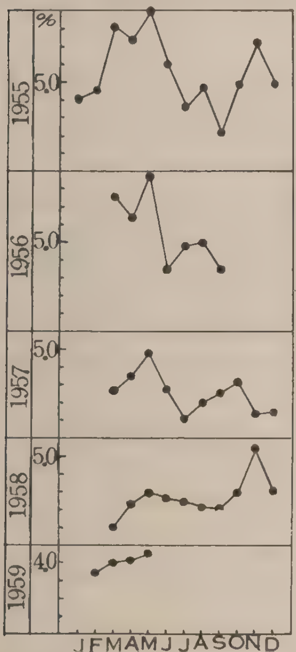


Fig. 4. Monthly variations of rate-of-catch of yellowfin tuna from 1955 to 1959 in the Arabian Sea.

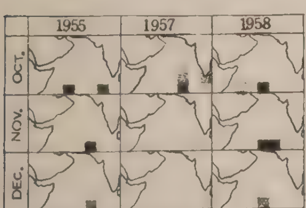


Fig. 5. Distribution of yellowfin tuna from October to December in three years 1955, '57 and '58, in the Arabian Sea.

rate-of-catch 2.0
〃 2.0～3.5
〃 3.5～5.0
〃 5.0

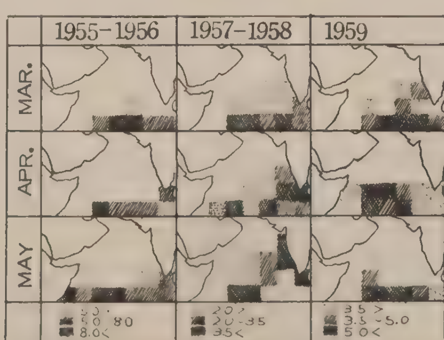


Fig. 6. Distributions of yellowfin tuna from March to May in three groups, 1955～'56 (good fishing years), 1957～'58 (bad fishing years) and 1959, in the Arabian Sea.

年から 1959 年にかけては海域全般的に好漁になつている。

しかし，1957，′58 年は東よりの海域が好漁であるのに対し，1955，′56 年と 1959 年は湾の中心部または西よりが好漁であり，好漁年と 1959 年とは同分布，好漁年および 1959 年と不漁年とは異なつている。

つぎに同好漁期の初期から終期にかけての漁場の変化をみると，**Fig. 6** に示すように，1957，′58 年は湾口部が最初から好漁，湾奥部の好漁海域が東から中心へと拡がつているのに対し，1955，′56 年と 1959 年は好漁海域が中心部から僅かに西へと移動している。すなわち，好漁年と 1959 年とは同変化で，好漁年および 1959 年と不漁年とは異なつている。

摘　　要

アラビア海のキハダの漁獲率と分布の経年および周年変化を調べたところ，つぎのような結果をえた。

1)　1955，′56 年は好漁年，1957，′58 年は不漁年で，1959 年は両者の中間型であつた。

2)　漁獲は毎年春季と晩秋に好漁になるが，春季の好漁期において，1955，′56 年は 3〜5 月が好漁であるが，1957，′58 年は 5 月のみが好漁である。

3)　春季の好漁期における分布の経年変化において，漁獲は海域全般的に増減しているが，好漁海域は 1957，′58 年は東よりに，1955，′56 年と 1959 年は湾の中心部または西よりにあつた。

4)　春季の好漁期における分布の経月変化において，1957，′58 年は湾口部が最初から好漁，湾奥部の好漁海域が東から中心部へと拡がつており，1955，′56 年と 1959 年は好漁海域が中心部から西へ僅かな移動があつた。

5)　以上の結果から，漁獲率も分布も好漁年と不漁年とで異なり，1959 年は不漁年の傾向より好漁年の傾向を多分に持つていることが推定される。

文　　献

1)　神奈川県水試：業務報告，昭和 32 年度，1959.

2)　――――――：鮪漁業 46，p. 6，1958.

3)　――――――：〃　57，p. 8，1959.

アラビア海におけるクロカワの漁獲率と分布の経年および周年変化

中 込 淳

(1959 年 7 月 17 日受理)

ANNUAL AND MONTHLY VARIATION OF FISHING CONDITION AND DISTRIBUTION OF BLACK MARLIN IN THE ARABIAN SEA

Jun NAKAGOME*

I studied on the annual and monthly variations of fishing condition and distribution of black marlin, *Makaira mazara* in the Arabian Sea.

1) The rate-of-catch (catch number per hundred hooks) of the fish in mouth part (Lat. 0−5°N.) of the Sea periodically variated with high in summer and low in winter.

2) The average rate-of-catch from April to September which was in good fishing period in the mouth part, increased from 1955 to 1957 and decreased from 1957 to 1959.

3) The rate-of-catch of the fish in 1958–'59 was lower than that of in 1955–'56 in the mouth part.

4) The rate-of-catch in the mouth part increased with all sub-areas from winter to summer and decreased from summer to winter.

5) The rate-of-catch in the inner part decreased from January to May. So, it was presumed that the rate-of-catch may periodically variate with high in winter and low in summer, and that the fish stock may migrates from north to south and to the opposite direction as fish stock in the western Pacific Ocean.

緒 言

アラビア海は，タヒチ周辺とともに近年発見されたクロカワ，*Makaira mazara* の二大漁場を形成している。タヒチ周辺におけるクロカワについては，すでに調べられはじめたが[1]，アラビア海におけるクロカワについては未だ報告をみない。そこで，著者は，同海域におけるクロカワの漁獲率と分布の経年および周年変化について調べたところ，2，3 の知見をえたので報告する。

発表を許され，御指導，御べんたつ下さった神奈川県水産試験場永井三夫場長に対し衷心より謝意を表する。

資料および方法

資料は，三崎入港船については神奈川県水試，東京，焼津入港船については南海区水研が蒐集し，神奈川県水試が整理したものを分析しなおして算出したものである。

漁獲率は釣獲率（鈎 100 本当りの漁獲尾数）を用い，分布は緯，経度 5° 区画毎 (Fig. 1) の釣獲率により表わした。

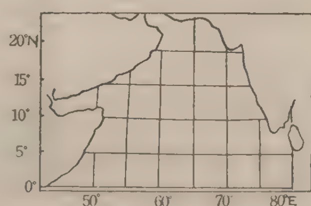


Fig. 1. Investigated sub-areas.

アラビア海におけるクロカワの漁獲率は，赤道以南と同様の夏季好漁の周年変化を行うものと考えられていた[2]。同海の 1957, '58 年のキハダが 5°N 以北（以下湾奥部と呼ぶ）と以南（以下湾口部と呼ぶ）とで分布を異にしているので[3]，クロカワも，5°N 以北と以南とに分

* 神奈川県水産試験場 Kanagawa Pref. Fish. Exp. Stat., Misaki, Miura, Kanagawa Pref..

離し，各海区毎に検討する。

漁獲率の湾奥部，湾口部における周年変化は，緯，経度 5° 区画毎に算出した釣獲率をそれぞれの海区，月毎に平均したものを用い，湾口部における好漁期の平均漁獲率の経年変化は，上述の湾口部で月毎に平均した釣獲率のうち 4～9 月のものについて平均して用いた。

なお，1 航海を 1 資料とした場合の年別資料数は Table 1 に示す。

Table 1. Number of sample.

Year	Number
1955	41
1956	53
1957	17
1958	21
1959	21*

* from January to May

結果および考察

1) 湾 口 部

湾口部におけるクロカワの漁獲率は，Fig. 2 に示すように，毎年夏季高率，冬季低率の周期的周年変化をする。

つぎに，同海区における好漁期 4～9 月の平均漁獲率の経年変化をみると，Fig. 3 に示すように，1955 年から 1956 年にかけてわずかに上昇，1957 年にかけて著しく上昇した後，1958 年にかけて著しく低下している。1959 年は未だ 5 月までしか調査されていないので不明であるが，各年の 4～5 月の平均漁獲率を比較すると，1955 年から 1956 年にかけてはわずかに上昇し好漁期の平均漁獲率の変化と同じであり，1958 年から 1959 年にかけてはわずかに低下しているので (Fig. 3)，好漁期の平均釣獲率も 1958 年から 1959 年にかけて低下するものと推定される。したがつて，1955 年から 1957 年にかけて上昇した漁獲率は，1957 年を峠に，1959 年にかけて低下しているものと考えられる。

また，Fig. 3 から明らかなように，1958, '59 年の漁獲率は 1955, 1956 年の漁獲率より低くなつている。

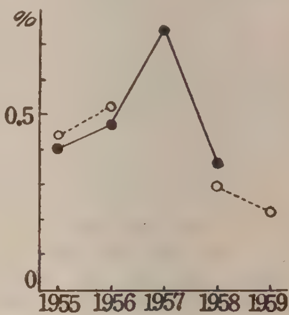


Fig. 3. Annual variations of rate-of-catch of black marlin averaging for each period in mouth part of the Arabian Sea.
—●— from April to September
- -○- - from April to May

同海区の年，月別分布は Fig. 4 に示す。すなわち，海域によつて著しい濃淡があり，その濃淡の出現海域が毎年一定しておらず，また月の間でも関係がみられないが，漁獲率は概して毎年海区全般的に上昇し，海区全般的に低下している。

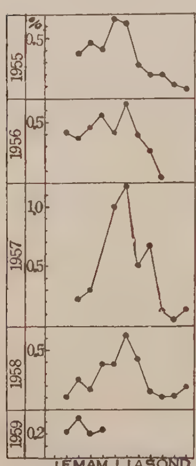


Fig. 2. Monthly variations of rate-of-catch of black marlin from 1955 to 1959 in mouth part of the Arabian Sea.

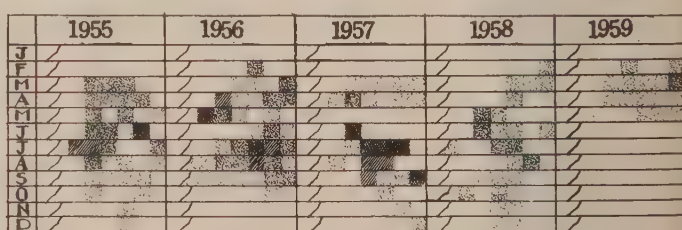


Fig. 4. Monthly distribution of black marlin from 1955 to 1959 in mouth part of the Arabian Sea.

rate-of-catch 0.4 >
〃 0.4～0.7
〃 0.7～1.0
〃 1.0 <

2) 湾奥部について

湾奥部における漁獲率は，6～12 月がほとんど調べられていないので周年変化は明らかでないが，1～5 月の経月変化は Fig. 5 に示すように 1 月から 5 月にかけて次第に低下しており，湾口部の変化と逆である。

また，1958，'59 年の 1～5 月における分布の経月変化においても，Fig. 6 に示すように，1 月から 5 月にかけての漁獲率の低下が推定される。

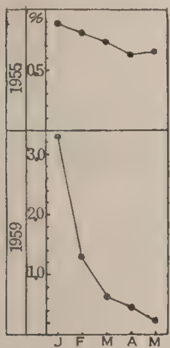


Fig. 5. Monthly variations of rate-of-catch of black marlin from January to May in the inner part of the Arabian Sea.

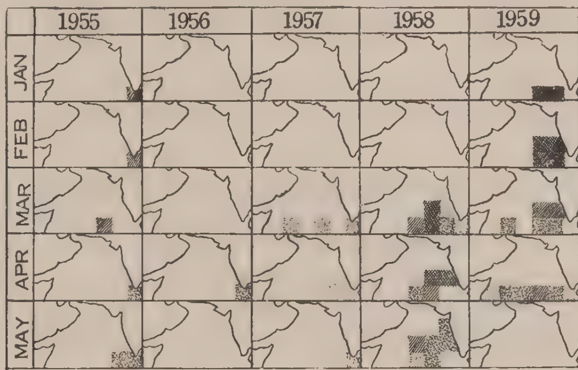


Fig. 6. Distribution of black marlin from January to May in five years from 1955 to 1959 in inner part of the Arabian Sea.

rate-of-catch 0.4 >
〃 0.4～0.7
〃 0.7～1.0
〃 1.0 <

なお，Fig. 5 において，漁獲率の 1955 年における経月変化の低下率と 1959 年における経月変化の低下率とが著しく異なるが，1955 年は毎月 1 区画しか調査されていない (Fig. 6) ので，同海区全体としては 1959 年のような変化をするものと考えられる。

したがつて，湾奥部における漁獲率は，6～12 月の変化が明らかでないが，湾口部における変化と逆の冬高夏低の周期的周年変化をし，魚群が太平洋にみられるような南北洄游[4] をしている可能性が考えられる。

摘　　要

アラビア海におけるクロカワの漁獲率と分布の経年および周年変化について調べたところ，つぎのような結果をえた。

1) 湾口部における漁獲率は夏高冬低の周期的周年変化をする。

2) 同海区における好漁期 4～9 月の平均漁獲率は，1955 年から 1957 年にかけて上昇し，1957 年から 1959 年にかけて低下している。

3) 1957，'58 年の同海区における漁獲率は．1955，'56 年の漁獲率より低い。

4) 同海区における漁獲率は，冬季から夏季にかけ海区全般的に上昇し，夏季から冬季にかけ海区全般的に低下している。

5) 湾奥部における漁獲率は，1 月から 5 月にかけて低下しており．湾口部の変下と逆である。この現象から，湾奥部における漁獲率が冬高夏低の周期的周年変化をし，魚群が太平洋にみられるような南北洄游をしている可能性が考えられる。

文　　献

1) 榎田昭一： 鮪漁業 59，1959.
2) 神奈川県水試： 昭和 32 年度業務報告，p. 32，1959.
3) 中込　淳： 本誌，**25** (6)，1959.
4) 中込　淳： 本誌，**23** (9)，1958.

北西部太平洋におけるビンナガ鮪漁場動態に関する研究—II.*

本邦南方海域の海況変動が冬，夏ビンナガ魚群の生態と漁場形成におよぼす影響

井上元男

(1959 年 8 月 5 日受理)

STUDIES ON MOVEMENTS OF ALBACORE FISHING GROUNDS IN THE NORTH WEST PACIFIC OCEAN—II.

INFLUENCE OF FLUCTUATIONS OF THE OCEANOGRAPHICAL CONDITIONS UPON THE MIGRATION AND DISTRIBUTION (PATTERN) OF ALBACORE IN THE WINTER-SUMMER PERIOD AND ITS FISHING GROUNDS IN THE SOUTHERN WATERS OFF JAPAN

Motoo INOUE†

The purpose of this study is to explain the variety of the life zone of Albacore in the winter-summer period under the influence of the fluctuations of the oceanographical conditions in the southern waters off Japan (Lat. 28–36°N, Long. 135–145°E).

The principal information, obtained from the analysis of yearly fluctuations of isotherms of sea surface, are as follows;

1) Oceanographic conditions can be classified into three patterns of C, L and C–L type, by existance or non-existence of so-called Cold Water Masses which appear frequently in the southern waters off Japan.

2) It seems reasonable to assume that the migration and distribution (pattern) and the formation of fishing grounds of Albacores in the winter-summer period have patterns which adapts itself to each oceanic pattern.

3) Its is found that migrations of Albacores in winter are controled by the Cold Water Masses which can be regarded as "environmental resistance" or "environmental barrier." Therefore fluctuations of the distrubution and fishing grounds occur according to the formation of the Cold Water Masses.

4) It can be said that fishing ground of summer Albacore moves to the west or east by oceanographic conditions mentioned above in article (3), and fishing season also begins early or later.

日本近海に来游するビンナガの海況と漁場形成については，従来，夏季の竿釣りビンナガ，冬季の延縄ビンナガとに区別され研究されているが[1)-5)]，ビンナガ魚群の生態と漁場を海況と関連させ，夏冬を通じて一連視する研究は少い。

著者は 1 報[8)]において，130–180°E，25–40°N 海域における冬ビンナガ**は魚体別に水温に対して，"すみわけ"を行なつており，表面水温 16.3°C 以下の水帯は魚群の洄游を阻止し，あるいは迂廻させる"環境

† 東海大学水産研究所 (Fish. Lab. Tokai Univ.)

* 本報告は 1959 年 4 月，日本水産学会大会に発表したものに加筆したものである。

** 11~2 月のビンナガを冬ビンナガ，4~7 月のビンナガを夏ビンナガと呼ぶ，冬ビンナガは主として下層游泳群で，延縄漁法によつて漁獲され，夏ビンナガは主として表層游泳群で竿釣り漁法によつて漁獲されるものである。

抵抗”，もしくは“環境障壁”と看做せる，したがつて，水温配置と漁場形成との間に密接な関係があること等を述べた。

近年，紀南，豆南海域の夏，冬ビンナガの漁場形成および漁況は著しい変動を生じている。本報告は冬から夏に至る水温配置の上から同海域の海洋の型を分類し，海況変動が魚群の洄游および漁場形成にいかなる影響をおよぼすかを究明したものである。

資料としては 1951 年から 1958 年に至る焼津港，清水港に水揚された漁船の漁況報告，気象庁発行の全国海況旬報，南海区水産研究所串本支所発行の延縄漁場図を使用した。

本研究を行うにあたり漁況報告を利用させて頂いている東北海区水産研究所所長木村喜之助博士並びに所員諸氏，南海区水産研究所所長中村広司博士始め所員諸氏の御好意に対して深謝する。また，理解ある援助を受けた本研究所所長松前重義博士および所員諸氏に感謝する。

なお，研究取纒に際し，御校閲，御助言を頂いた三重県立大学水産学部石井一美教授に深謝する。

表面等温線の配置より見た本邦南方海域の海況変動と漁場の動態

本邦，南方海域の海況と漁場の形成について，宇田[2] は紀南海域に出現する冷水塊と関連させ，主として夏ビンナガの漁場位置を図示している。木村[7] は長年に亘る旬別の等温線と夏，冬ビンナガ漁場を記載している。また，川合[3]， 川崎[4),5] は夏ビンナガの漁場は黒潮流路外側の高鹹で，表面低温な水塊に形成されることを述べている。

著者[8]は先に冬，夏ビンナガを一連視し，T-Cl diagram 等から追究し，冬ビンナガの漁場すなわち魚群の溜り場の水塊が夏季まで持続され，夏ビンナガ漁場形成の温床的役割を果すことを発表した。

餘つて，紀南，豆南海域の海況変動は表面等温線配置の上から充分察知されうる。

今，便宜上， 調査海域を冬，夏ビンナガ漁場となる 135－145°E, 28－36°N に取り， 同海域の海況変動を冷水塊の有無により分類すると，1951 年から 1958 年に至る 1～6 月の冬，夏ビンナガ漁場の海洋型は次の 三つに分けられるようである。

海洋型の分類

C 型： 冬季から夏季にかけて潮の岬沖，若しくは遠州灘沖合に 17°C 以下の冷水塊が張り出し， 黒潮流路は冷水塊を迂廻して南沖を通り，本土に接岸しない型（冷水塊型）。

L 型*： 冬季から冷水塊がなく，黒潮流路は終始，近海を通り，黒潮流路南側に冬からの高鹹な低温水塊が夏漁期 4～6 月頃まで残存し[3]， 黒潮流路南側水域の表面水温は周囲より低温の 18～22°C 級の低温水塊とし存在する型（低温水塊型若くは無冷水塊型）。

C－L 型： 冬季には冷水塊が存在し， 夏漁期 4， 5 月以前に冷水塊の消滅する型（冷水塊－低温水塊型）。

これら海洋型に分類し**，冬，夏ビンナガの漁漁獲分布を図示したのが Fig. 1～3 である。(但し，冬，夏の代表的等温線配置の型として，それぞれ，2 月中旬，5 月上旬***を取り，冬の漁獲分布の代表として 2 月中旬の延縄の鈎獲率 1% 以上の黒を plot し，分布範囲を示した。)

海洋型と魚群の生態，漁魚場形成について

C 型： この型は 1954， 1955 年に見られ， 冬季には表面中心示度 16～17°C 以下の冷水塊が遠州灘沖に張り出し****，夏ビンナガ漁期まで，その形態は維持された。

1 報[6]で述べたように， 冬季， 表面 16.3°C 以下の水帯は環境抵抗の役割を果すようになるから， 伊豆列

* この型の夏季の型は川崎の述べる漁場成立の第 1 の型に相当する。

** 将来，異常変動によつて 1～6 月の間に L-C 型の場合もあるかも知れない。

*** 水塊の持続性を考慮し，夏ビンナガ漁期 4～6 月のほぼ中間を取つた。

**** 1954 年 2 月中旬には資料が欠け，冷水塊は明瞭としないが，其後の気象庁海況旬報海況図よりして 2 月中旬頃より遠州灘沖に表面水温 16°C 級の冷水塊が張り出したことが判る。

Figs. 1～3. The pattern of the fluctuation of the Oceanographical Conditions and the movement of Albacore fishing grounds in the winter-summer period in the southern waters off Japan, 1951～1958.

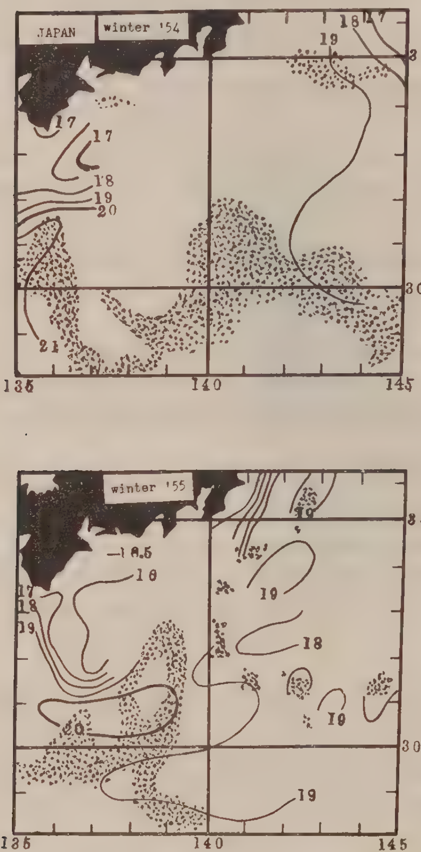


Fig. 1a. C pattern

Figure; -Oo- Isotherms of Sea (Surface) °C

Albacore distribution for the second ten days of February.

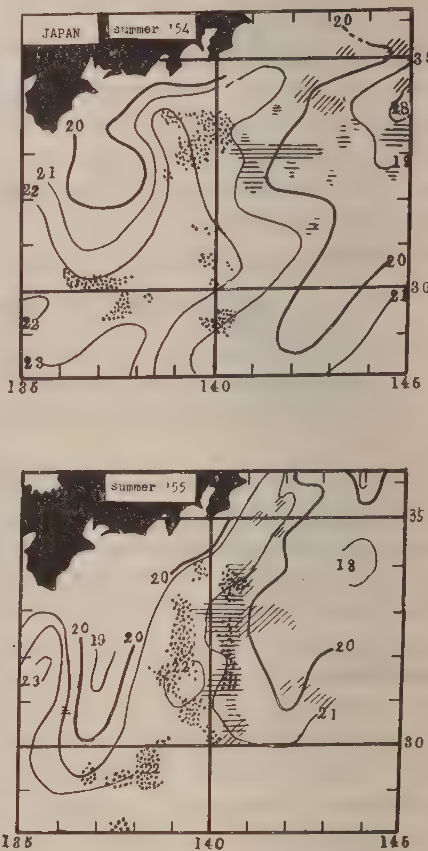


Fig. 1b. C. pattern

Albacore distribution

(April)

(May)

(June)

Isotherms °C, for the First ten days of May.

島線を越えて紀南海域に西進する南下魚群の進路および 28°N 以南より来游すると思われる魚群の進路は表面水温 17°C 以下の冷水塊による環境抵抗により遮断され，また南偏させられる。その結果，魚群は冷水塊の東側海域，あるいは冷水塊の張り出しの南側の 18～20°C 級の適温水帯に沿つて分布するようになる。すなわち魚群分布は東偏，または南偏するようになる (Fig. 1a)。このようにして，冬から潜在しておつた魚群は大凡 4 月以降浮上し*，夏季漁場が形成される。そのため，漁場は冷水塊の東側水域や伊豆列島線沿い

* 著者の永年に亘る観察から冬から夏に移行する漁場および魚体の重合から考えて，冬季からの下層潜在魚群が浮上し，夏季魚群になることは疑いのないことである。魚体測定した須田の研究[9] からも，漁業者間にも一般的常識となつている。

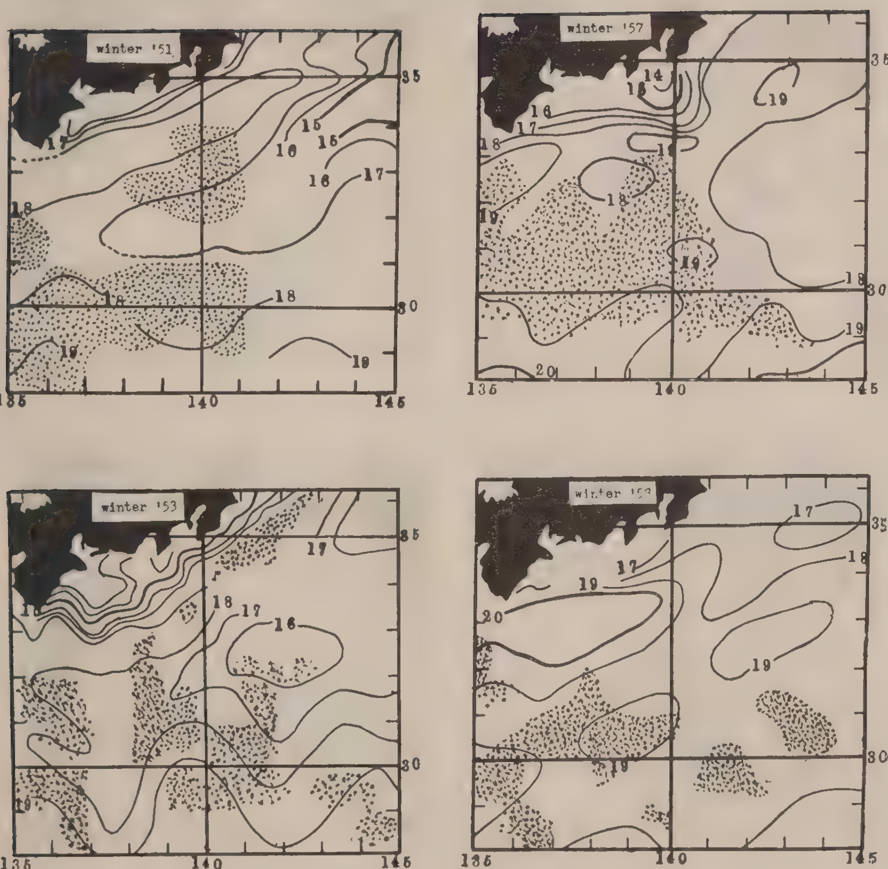


Fig. 2a. L. pattern
Figure; Same as Figs. 1a, 1b.

に南北に細長く形成される傾向を帯びる (Fig. 1b)。また，夏季の魚群分布から明らかなごとく，魚群は 140°E 以西海域に遅くまで残留せず，4 月から魚群は冷水塊東側を北上し，5 月には 140°E 以東に移り，東沖への移動は速いようである。したがつて野島崎南東近海や伊豆列島線沿いでは 4，5 月に好漁場を形成するが，6 月には漁場は東に移行し，好漁場は形成されておらない。しかし，5 月上旬の野島崎南東の等温線の配置から見て，ビンナガ適温の 19～20°C の低温水帯が南北に細長く残存していることから，あるいは列島線沿いの魚群は 21，22°C 線の高温水帯に乗つて早期に北上し，これを追う漁船の配置が北に偏りすぎ，房総南東海域の 30°N 以北に残存する魚群を対象とする南側漁場の選定に不適当なためによるとも考えられる。

L 型： 1951，1953，1957，1958 年に見られる。冬季の魚群の分布状態は環境抵抗となる冷水塊がないので，C 型の場合と大きく異なる。すなわち，房総近海を南下する魚群は 18～20°C 線の暖水帯に沿つて南下し，つい伊豆列島線を越えて，西方海域に移ることが，漁場追跡の上から認められる。したがつて，冬季の魚群は 18～19°C 線のビンナガの適温水帯に沿い，30°N 線に沿に南偏し分布する傾向を示す。また，同時に魚群は大きく北方に分布し，全般的に北偏することを示す (Fig. 2a)。夏季には Fig. 2b に示すように，魚群は 5～

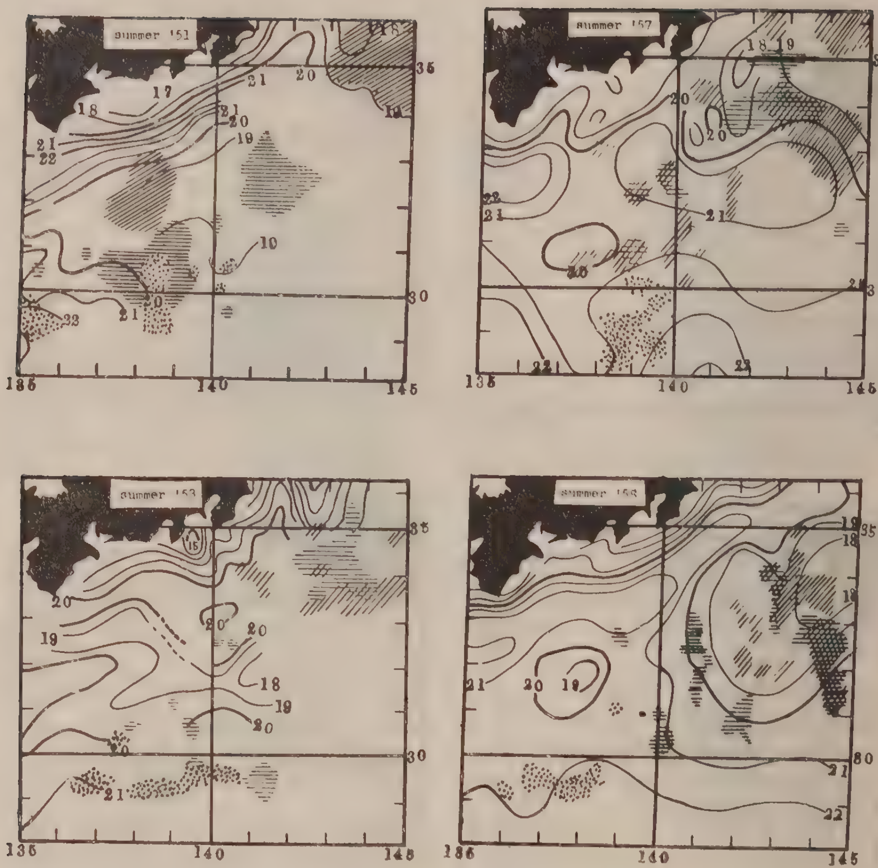
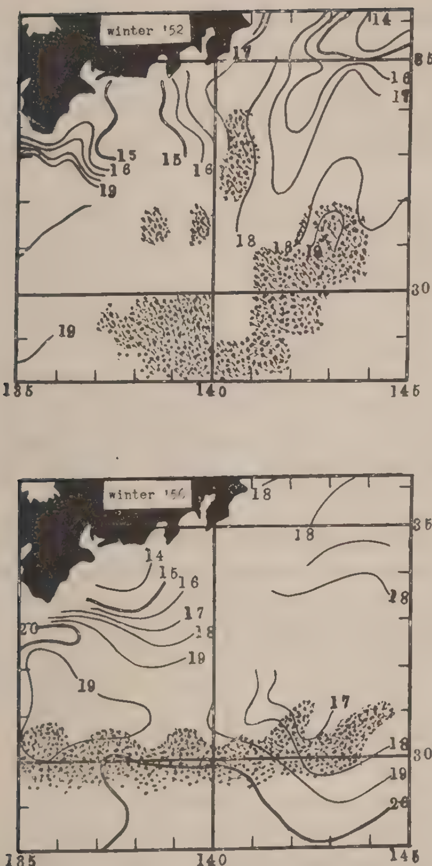


Fig. 2b.　L. pattern
Figure; Same as Figs. 1a, 1b.

6 月頃まで低温水塊内部に残存する傾向を示し，漁期が延長される。漁場が旨く開発されれば*，1951 年のように魚群が西に滞留し，遅くまで漁期が続くこともある。また，房総南東沖合には冬季の漁場を形成する黒潮流路以南の低温水塊が，夏季表層低温水塊となつて残存する。このため冬季 30°N 線附近に残存し，夏を迎えて北上する魚群は 6 月頃まで，上記水塊内に残存し[8]，夏ビンナガ漁場を形成することを示している。したがつて，この型の場合は総じて近海に遅くまで好魚場を形成する。

L-C 型：　この型の特徴は冬季に小規模の冷水塊が形成され，魚群分布はC 型とほぼ似通つた南偏，東偏の傾向を帯びるが (Fig. 3a)，C 型の場合ほど顕著なものではない。夏季には冷水塊が縮小，若くは消滅し，黒潮流路は接岸し，黒潮流路以南には冬からの低温水塊が残存し[8]，海洋および漁場の形成は L 型となる。したがつて C 型に較べて 140°E 以西海域での魚群の移動はやや遅く，5 月頃まで残存し漁場を形成する (Fig. 3b)。また，L 型と同様 5~6 月頃房総南東海域に好漁場を形成するようである (Fig. 3b)。総じ

* L 型は魚群の浮上期が遅れ，漁獲を見ないので，漁船は野島島東沖漁場に移動し，しばしば紀南，室南海域の漁場が見捨られる。1952，1958 年は見捨られ，1951，1957 年に漁場が旨く開発され 6 月以降まで漁期は続いた。なお，1959 年も L 型を呈し，6 月上旬まで漁場は続いた。



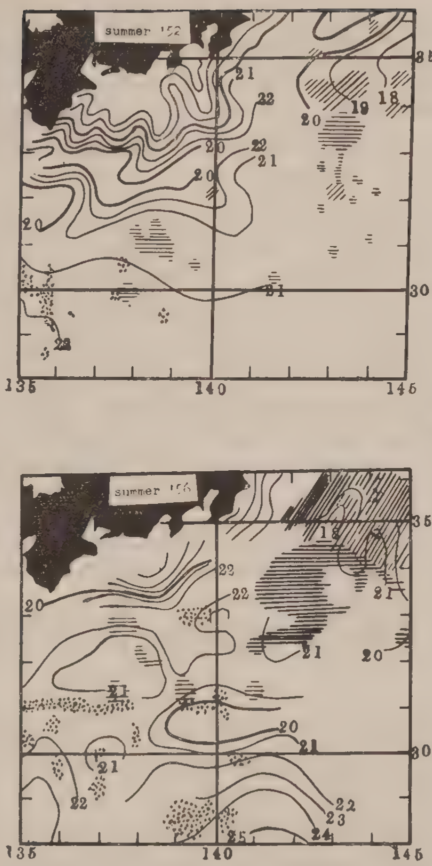


Fig. 3a. C–L. pattern　　**Fig. 3b.** C–L. pattern

Figure; Same as Figs. 1a, 1b.

て，この型はＣ型，Ｌ型を組合させたような漁場の動態を示す。

以上の海洋型の分類，漁場形成の傾向は本[illegible]の漁場図[7]に当嵌ても成り立つことが確められる。

考　　察

気象庁発行の旬刊の全国海況旬報より見て明らかなように，1月から6月頃までの本調査海域の海況は水塊や海流の分布を表面等温線配置の上に反映させる。したがって表面等温線により本時有力海域の海況変動を引起す冷水塊の存在，有無を察知し，海況変動に応じた海洋型を分類することができる*。

一方冬季における漁場形成の場は各海洋型のビンナガ適温の表面等温線配置により，大凡，表わし得る。すなわち，冬季，[illegible]沖合に出現する17°C線以下の冷水塊は環境抵抗として存在する。また，18～20°C線の水帯はビンナガの生活好適帯として，漁況を左右する漁場を形成する。従来から同海域の夏ビン

* 詳細な海洋構造の形状を調べるにはさらに下層100，200m 層の等温線，塩素量などの資料を利用すれば万全を期することができる。本研究では実用性を考慮し，容易に，豊富に入手できる表面水温資料を利用した。しかし，6月以降は年により表面等温線の上に下層水塊の形状が反映しないことがあるので，下層資料からも水塊の持続性を吟味し，確め2月中旬，5月上旬の表面等温線を使用した。

ナガ漁業は以上のような海況変動を無視した経験的な漁場選定により不安定な漁業を営んできたと考えられる。本報告より冬季における海況変動が冬ビンナガの漁場位置の変動となり，その結果，夏ビンナガ漁場形成位置の変動を引起すことが分るであろう。またこのことは海流あるいは水塊として眺めた場合，冬ビンナガ漁場水塊が夏まで持続され，夏ビンナガ漁場を形成することであり[8]，夏季におけるL型の海況条件は川崎の述べる夏季の漁場が塩素量19.20‰以上の高鹹な水帯若くは水塊に形成されるという漁場成立の第1の型に相当するものである。

各海洋型の中で，冬季魚群分布と夏季魚群分布が，しばしば不連続になり，冬，夏ビンナガ漁場との間に関連性がないように見えるところがある。これは冬季魚群分布の代表を2月中旬にとつたためによる分布上のずれと延縄と竿釣り漁法という冬季と夏季の漁法からする漁場選定の不適格によるものと考えられる。また，このことは海況変動が夏季の生物的環境特に餌料に変化をおよぼし，夏季魚群の浮上，出現の機会に漁船の行動が適合しないことによるためであろうと考えられる。別な見方をすれば，この冬，夏ビンナガ分布の不連続性は延縄鈎獲率からして，冬季ある海域にビンナガの来游量があると確認されても，夏季の漁船の行動，その他の要因から漁場が形成されず，その海域から漁獲がほとんどあがらぬこともあるということを意味するものである。したがつて，このことは冬季の鈎獲率と夏季，竿釣りよる漁獲量を関連づける場合に注意を要せねばならないことであろう。場の変動機構と漁獲量を含めた漁況の解明は以上のような諸要素をも入れ，今後の研究にしたい。

なお，1959年度から，以上の理論を漁場予報の原理として，1月以降の表面等温線の配置から海況変動に応じた海洋型を知り，魚群の分布状態の移行を加味して，大凡，4月以降の夏ビンナガ漁場形成の場を予報できるようになつた[10]。また，この結果，従来から慣習の微小水域調査に重点を置く，漁場選定方法から脱却し，巨視的に想定した主漁場に漁船のコースを指導し，効果を挙げられるようになつてきた。

要　　約

本研究の結果，135－145°E，28－36°N の範囲内において，ほぼ次のことが判明した。

（1） 本邦南方海域の海況変動の型を冬から夏にかけての表面等温線の配置から，C型，L型，C−L型の三つの海洋型に分類した。

（2） 冬，夏ビンナガは各海洋型に適応した魚群の生態，漁場の形成をする。

（3） 冬季遠州灘沖合に出現する冷水塊は環境抵抗として，魚群の洄游を支配し，その出現の有無は冬季魚群の分布とその限界，並びに漁場形成に大きな変動をもたらす。

（4） (3) による変動は本邦南方海域の夏季ビンナガ漁場の西偏，東偏の因をなし，漁期に遅速をもたらす。

文　　献

1) 宇田道隆： 本誌，**4**，61～65 (1935).
2) 宇田道隆： 水産試験場報告，**10**，231～278 (1940).
3) 川合英夫： 東北海区水産研究所報告，**5**，8～24 (1953).
4) 川崎　健・相沢幸雄： 東北海区水産研究所報告，**6**. 82～92 (1956).
5) 川崎　健： 東北海区水産研究所報告，**9**，69～107 (1957).
6) 井上元男： 本誌，**23**，673～679 (1958).
7) 木村喜之助： “カツオ漁場図集（附ビンナガ漁場）”，黒潮書房，東京 (1949).
8) 井上元男： 1958年4月東京における日本水産学会研究発表要旨（未刊).
9) 須田　明： 本誌，**21**，314～319 (1955).
10) 東海大学水産研究所： ビンチョウ鮪漁場予報 No. 1～112 (1953～1959).
11) 気象庁： 全国海況旬報，(1951～1959).
12) 南海区水産研究所，串本支所： 延縄漁場図.

コイの葉酸およびフォリン酸に関する研究

柿 本 大 壱・金 沢 昭 夫

(1959 年 3 月 20 日受理)

STUDIES ON FOLIC ACID AND FOLINIC ACID OF *CYPRINUS CARPIO*

Daiichi KAKIMOTO and Akio KANAZAWA*

Post-mortem changes of the contents of folic acid, FA, and folinic acid, CF, in muscle (white), heart, gonad, liver, kidney and blood were pursued using carp, *Cyprinus carpio*, as material which were killed instantaneously and dissected just after then. The results found with the specimens subjected to autolysis were compared with those obtained for parallel samples of said tissues and organs intentionally added with the so-called conjugase that had been prepared from chick pancreas or from hog kidney (see Table 1 and Fig. 1).

While examined by subjecting them to autolysis for 72 hours at 30°C, on the one hand without addition and on the other hand with addition of conjugase together with cysteine, said tissues and organs developed a few peculialities as follows:

In the case of blood, the amounts of free FA and CF increase rapidly in a way practically uninfluenced by the addition of conjugase.

In liver and kidney as highly potentialized with both FA and CF, amounts of these acids in free state, though increase rapidly, can attain to their maximums only in the presence of added conjugase.

Muscle (white), heart and gonard resemble one another in that mere autolysis does not cause them to liberate any substantial amounts of CF.

前報[1]では数種の魚類筋肉，内臓等に含まれている葉酸 (FA)，フォリン酸 (CF) の量並びに形態を報告した。著者等の測定した試料は新鮮ではあつたが，市場に陸揚されたもので死後の経過時間は不明である。天然物中の FA, CF は本来結合型で存在するものといわれているが，死後いかなる変化をするかについては明らかではない。鮮度によるこれら因子の変化は魚類の利用からみて重要であるばかりでなく，短時間内の変化を知ることは生化学的にも貴重な資料を提供するものと思われる。著者等は即殺後時間の経過とともに起きると予想される FA, CF の遊離量をコイを用いて測定した。以下研究法と結果を述べる。

実 験 の 部

1. 試料の調製

この実験は昭和 32 年 11 月に行なつたものであり，養魚池からえた体重 450～600g のコイ 8 匹を即殺後すみやかに解剖し各組織および器官に分けた。分析は 1 匹宛行ない Table 1 に示したものはその平均値である。

i) 血液は心臓から直接採血し，その 3cc を pH 7.0 の M/10 燐酸塩緩衝液で稀釈し全容を 65cc にした。この 5cc を直ちに湯煎上で 5 分間煮沸したものを 0 時間における供試料とし，残り 60cc を各々 30cc 宛に分した。このうち自己消化中に起きる FA, CF の遊離量を測定するための試料には，さらに 10cc の燐酸塩緩衝液を加えて全容を 40cc とし，他の 30cc は既報のブタ腎臓，ニワトリ膵臓から調製した Conjugase 各々 3cc と Cysteine 30mg を加えた後燐酸塩緩衝液で全容を 40cc に調製した。この両液にトルオールを加え 37°C で 6, 12, 24, 48, 72 時間酵素作用を受けさせた後の遊離 FA, CF を定量した。

* 鹿児島大学水産学部 (Fac. Fish., Kagoshima Univ.).

Table 1. Changes of free FA and CF in tissues or organs of *Cyprinus carpio* in the course of incubation with or without conjugase addition.

Tissues or organs	Incubation time at 37°C	Free FA mγ/g		Aut.* / Conj.* ×100	Free CF mγ/g		Aut.* / Conj.* ×100
		Aut.*	Conj.*		Aut.*	Conj.*	
Blood	0	7	7		1	1	
	6	9	12	75	3	3	100
	12	11	14	79	3	4	75
	24	12	**14**	86	3	**4**	75
	48	13	14	93	4	4	100
	72	13	14	93	4	4	100
Heart	0	14	14		6	6	
	6	17	42	40	12	84	14
	12	19	61	31	13	86	15
	24	24	**67**	36	14	**88**	16
	48	25	67	37	16	88	18
	72	27	67	40	19	88	22
Liver	0	14	14		7	7	
	6	42	338	12	47	207	23
	12	129	364	35	91	391	23
	24	190	**390**	49	222	**468**	47
	48	207	390	53	263	468	56
	72	213	390	55	286	468	61
Kidney	0	7	7		3	3	
	6	34	393	9	12	204	6
	12	104	472	22	112	468	24
	24	231	**516**	45	247	**583**	42
	48	281	516	54	298	583	51
	72	303	516	59	329	583	56
Gonad	0	6	6		2	2	
	6	25	29	86	4	92	4
	12	26	39	67	8	130	6
	24	28	**49**	57	10	**136**	7
	48	28	49	57	10	136	7
	72	31	49	63	11	136	8
White muscle	0	3	3		0.5	0.5	
	6	3	15	20	0.5	10	5
	12	5	23	22	0.6	12	5
	24	8	**23**	35	0.6	**13**	5
	48	11	23	48	0.6	13	5
	72	11	23	48	0.7	13	5

* Aut. and Conj.: indicate autolysis and autolysis with conjugase, respectively.

ii) 心臓，肝臓，腎臓，生殖巣および筋肉は各々 1.5g を秤量し，pH 7.0 の M/10 燐酸塩緩衝液を少量加え冷却しながらホモジナイズし，全容を 65cc にして血液の場合と同様，自己消化法並びに Conjugase 消化法の試料にあて，0 時間から 72 時間に亘り血液の項と同様に遊離 FA，CF を定量した。定量法は既報[1]と同様 Bioassay によつた。

2. 実験結果並びに考察

試料の調製法に述べた処理法によつて求めたコイ各組織器官中の FA，CF の含有量，および自己消化または Conjugase による消化が遊離する FA，CF 量を，Conjugase 消化を基礎にした百分率で示し Table 1 に表わした。(表中太字で示した量は FA，CF の定量法に用いられるのと同一消化条件下にえられた値なので，これを各組織器官中の FA，CF 含有量とした)，また消化時間による各組織器官の FA，CF 量の変化を Fig. 1 に示した。

すなわち，コイにおいて FA 含量は腎臓 516mγ/g，以下肝臓 390mγ，心臓 67mγ，生殖巣 49mγ，筋

肉 23 mγ，血液 14 mγ の順位であり，CF 含量は腎臓 583 mγ/g，以下肝臓 468 mγ，生殖巣 136 mγ，心臓 88 mγ，筋肉 13 mγ，血液 4 mγ であつて各組織器官における含量の序列は，心臓と生殖巣について入れ替つたのみで概ね一致している。次に自己消化が各組織器官中の FA，CF の遊離に与える影響をみると，Table 1, Fig. 1 に示すように血液の場合を除いては Conjugase による遊離の程度に比べて FA，CF いずれについても低いことがわかる。以下各器官組織について略記する。

血液： 自己消化の時間が長くなるにつれて FA，CF ともに遊離量は増加する。但し FA では初めの 6 時間の消化で Conjugase 消化の 75% に達し，その後徐々に増加するが 48 時間後では Conjugase 消化による遊離量と同一になる。また CF については 6 時間後自己消化と Conjugase 消化が同量の遊離量を与えるが 12 時間，24 時間後では自己消化による遊離量は Conjugase 消化によるものの 75% になり 48 時間後に再び同一になる。

筋肉： 筋肉中では FA，CF 含量は血液に比べてわずかに高いが，その他の組織器官に比べて著しく低い。自己消化による遊離は Fig. 1 に示すように FA，CF ともに Conjugase 消化に比べて低い。すなわち FA では 72 時間自己消化により測定された含量は Conjugase 消化のものの 48% であり，CF では 5% に過ぎなかつた。

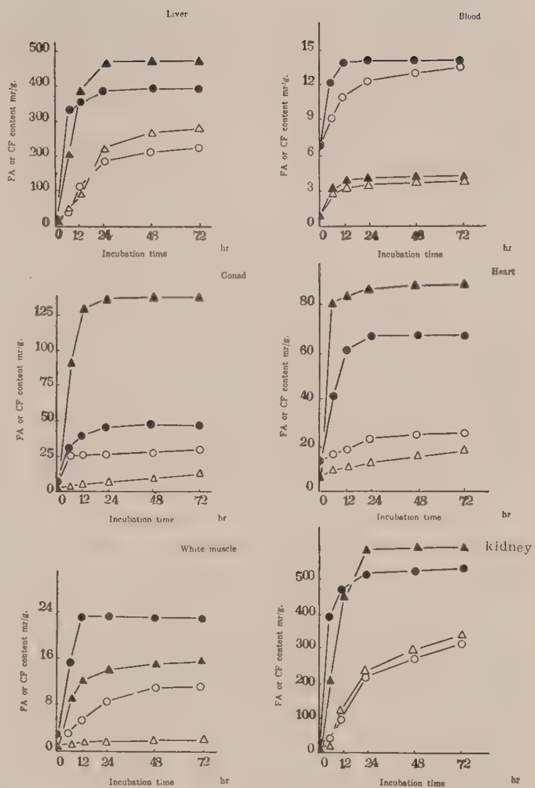


Fig. 1. Changes of free FA and CF in tissues or organs of *Cyprinus carpio* in the course of incubation with or without conjugase addition.
—●—: FA liberated in the presence of hog kidney and chick pancreas conjugase.
—▲—: CF liberated in the presence of hog kidney and chick pancreas conjugase.
—○—: FA liberated by autolysis alone.
—△—: CF liberated by autolysis alone.

心臓： 心臓の FA，CF 含量は血液，筋肉より高いが自己消化では容易に遊離されない。72 時間自己消化したものでは遊離 FA，CF が Conjugase 消化のそれぞれ 40%，22% である。

生殖巣： 心臓の場合に比べて FA の含量はわずかに低いが CF 含量は高い。自己消化による遊離は FA に関しては 72 時間後では Conjugase 消化の 63% に達する。これに対し CF の遊離は行なわれ難く，72 時間後でも Conjugase 消化の 8% に過ぎない。CF が遊離され難いことは筋肉の場合と似ている。

肝臓： FA，CF の含量は両者とも前記各試料に比べ著しく高い。また自己消化による遊離は時間とともに漸増的で 72 時間後では Conjugase 消化に対し FA が 55%，CF が 61% になる。

腎臓： FA，CF 含量は肝臓の場合よりも高く各組織器官中最高値を示す。自己消化による遊離の傾向は肝臓の場合と同様に時間とともに漸増的である。72 時間後には Conjugase 消化に対し FA で 59%，CF で 56% を示す。

各組織器官中の自己消化による FA，CF の遊離は筋肉や，生殖巣の CF のようにほとんど遊離されない

ものを除いては何れも24時間以内に著しく進み，その後は比較的緩除である。これらの組織器官中心臓，生殖巣，筋肉では肝臓や腎臓に比べて自己消化による遊離がきわめて低い。以上のごとくコイは即殺後各組織器官ごとに自己消化によつて FA, CF を遊離するが，FA, CF の遊離の度合が組織，器官によつて相違すること，また遊離作用は Conjugase 消化では比較的短時間，すなわち 24 時間以内で maximum に達し，自己消化ではさらに長時間を要することが判つた。この両因子の遊離は恐らく各組織器官の有する Conjugase 作用に依るものと予想されるが，筋肉，生殖巣，心臓における相似性と血液，肝臓，腎臓における相似性は興味のある事実である。

摘　　要

1) コイを即殺後直ちに解剖し，各組織器官中の FA, CF の含有量を測定した。(Table 1)

2) 30°C で 72 時間自己消化を行なつたコイの各組織器官では FA, CF の遊離に二三の特色が認められる。血液では，自己消化によつて遊離される FA, CF は，ニワトリ膵臓，ブタ腎臓等から調製したいわゆる Conjugase を作用させることによつて遊離される FA, CF と量的にほぼ類似している。最も含有量の高い肝臓，腎臓では両者とも消化時間とともに遊離量が漸増するが Conjugase の効果のように 24 時間以内に急増し maximum に達することはない。筋肉，心臓，生殖巣はいづれも自己消化によつて CF を遊離することはない。(Fig. 1)

終りに臨み，本研究を実施するに当り，終始御教示を賜つた柏田研一教授に深謝の意を表するとともに実験に協力された奥野茂樹君に感謝する次第である。

文　　献

1) 柿本大壱・金沢昭夫： 本誌，**24**，933 (1959).

ねり製品の足に対する澱粉の補強効果—III.
合成樹脂粒子によるモデル実験

岡　田　　稔・山　崎　惇　子

(1959 年 6 月 12 日受理)

ENHANCING EFFECT OF STARCH ON JELLY STRENGTH OF FISH MEAT JELLY—III. MODEL EXPERIMENTS WITH SYNTHETIC RESIN PARTICLES

Minoru OKADA and Atsuko YAMAZAKI*

In the previous papers of this series, it was shown that gelatinization of starch was necessary for enhancing jelly strength of fish meat jelly (Kamaboko), and it was supposed that physical properties of starch granules embeded in meat texture might have a close relationship with its ability reinforcing jelly strength.

In this paper, it was discussed, using synthetic resin particles as models of starch grain, how jelly strength of fish meat jelly varies with the properties (mainly, mechanical strength and affinity for water) of fine particles embeded in the jelly.

In the presence of small particles (diameter of about 100μ) of polyvinyl chloride (PVC), polyvinilidene chloride (PVdC) or sand, a distinct increase in jelly strength was observed by a gelometer. This effect decreased in the order named.

The effectiveness varied also with size of particles. For example, with PVC, the following order was observed,

$$20\mu > 100\mu > 3\mu.$$

Hydrophobic synthetic resin particles above mentioned had no improving action for "Ashi" of Kamaboko judged by sensory test, though they distinctly increased the mechanical strength of the jelly. On the other hand, granules of polyvinyl alcohol which has a strong affinity for water showed improving effect similar to starch, keeping together meat tissue and water, and creating fine-grained, tender body with high jelly strength.

In conclusion, in order to improve "Ashi" of Kamaboko, it is necessary that granules both with certain degree of mechanical strength and with a strong affinity for water was present in meat texture.

澱粉がねり製品の足に対して補強効果を現わすためには澱粉粒として肉中に混和され，その状態で糊化されることが必要であり，しかも予め糊化せしめた澱粉を加えた場合には，補強効果を示さず逆に弾力のあるゼリーの形成を阻害することを前報[1),2)]において明らかにした。糊化した澱粉粒と生澱粉粒との著るしい違いの1つは水和しているか否かであり，また粒の物理的性質の相違である。すなわち糊化すれば澱粉粒は多量の水を固定して水和性を著るしく増し，また弾力にとんだものとなる。そこで肉中に存在する粒の物理的性質および水和性の有無がねり製品の足にどのような影響を与えるかをみるため，親水性はないが機械的強度の強い物質として澱粉粒とほぼ同じ大きさの海砂，塩化ビニール，塩化ビリニデン，および親水性のあるものとしてポリビニールアルコールの小粒子を魚肉のすり身に加えてねり製品の足におよぼす影響をみた。

* 東海区水産研究所 (Tokai Reg. Fish. Res. Lab. Chuō-ku, Tokyo, Japan).
東海区水産研究所業績 B 第 314 号

実　　　験

1. 実験材料

A．水和性の無い物質

塩化ビニール樹脂 PVC　　$CH_2=CHCl$ の重合物，粒径 3μ，20μ，100μ の3種の球形粒子を用いた。

塩化ビニリデン樹脂 PVdC　　$CH_2=CCl_2$ の重合物，粒径 100μ の球状粒子。

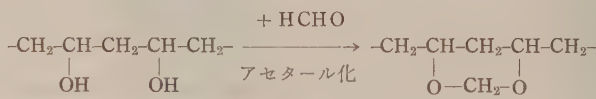
海　砂　　精製海砂を 170 メッシュの篩にかけ通過粒子を選んだ。粒径 80μ の多角形の粒子でほぼ揃っている。

以上3者の吸水能力はほとんど全く持たず，親水性の無い粒子である。

B．水和性のある物質

ビニールアルコール樹脂 PVA　　水和性のある高分子としてポリビニールアルコールを用いた。これは $CH_2=CH(OH)$ の重合物で微粉ではあるが，球形でなく繊維状の細長い形をしており，大きさは不揃いである。水中で 80°C 以上に加熱すると溶解してきわめて粘稠な溶液となる。

また PVA をアセタール化すると耐熱性，水和性が変化することが知られているので，硫酸々性で HCHO を作用させ，アセタール化度のちがつた試料2種を造つた。



この操作により PVA は熱水に不溶となり，固さを増す。

2. 実験方法

前報[2] 同様，クロカワカジキとキハダ精肉 1: 1 の混合物に 3% の食塩を加えて，塩ずり肉を作り，これに合成樹脂の小粒子を混和した。このすり身をケーシングに詰めて 80°C の湯に 45 分間浸漬して加熱を行ない，一晩放冷後測定を行なつた。補強効果は官能的に検するとともに物理的測定を行ない，また圧搾水分量 (10 kg/cm², 10秒 加圧) を求めた。

実　験　結　果

A. 水和性を持たぬ粒子の影響

1. 水和性のない粒子の補強効果

粒子の大きさの差による影響をさけるため，まず大きさのほぼ等しい約 100μ 前後の PVC, PVdC, 海砂を用いてその影響をみた。これら粒子を加えるとゼリー強度計で測定するカマボコのゼリー強度は高くな

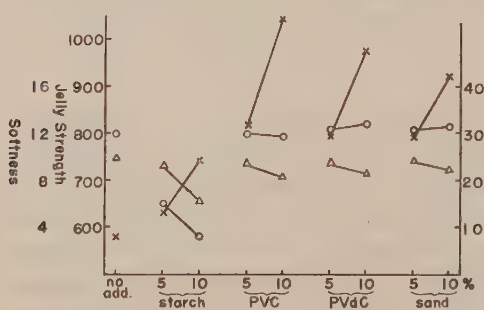


Fig. 1. Enhancing effect of hydrophobic particles (diameter; 100μ).
×; Jelly strength
○; Softness
△; Expressible water

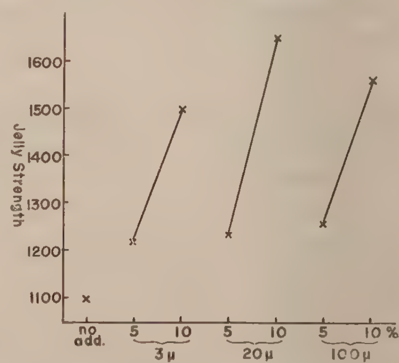


Fig. 2. Relation between reinforcing ability and size of PVC particle.

り，その効果は混和量が多くなる程大きくなる。しかし澱粉と違つて圧搾水分量にはほとんど影響を与えず，軟かさの値も大きく変化しない。特に外観的には澱粉の場合のように，きめの細かいなめらかな肌を作らず，また口に入れると異様な触感を与えてカマボコとしての足，しなやかさ，弾力を改善する作用は認められない。ゼリー強度を高くする効果は添加量 5% でははつきりした差は認められないが，10% の場合を比較すると　海砂 ＜PVdC ＜PVC の順に大きくなる (Fig. 1)。

2. 粒子の大きさ

PVC の大きさを変えて粒子の大きさの影響をみた。3μ, 20μ, 100μ の大きさのうちゼリー強度を増強させる力は 20μ が一番強く 20μ ＞ 100μ ＞ 3μ の順が認められ，粒子の大きさによつて効果の違うことが認められた (Fig. 2)。

B. 水和性のある粒子の影響

1. PVA の補強効果

短繊維の PVA 微粉を用いてその補強効果をみた。PVA は水中では 80°C に加熱するとゾルとなり冷却してもゲル化しない。しかし顕微鏡観察によれば PVA はカマボコ中では粒子のまま肉中に埋没していることが確かめられた。PVA は前記 PVC などと違つて肉のゼリー強度を高める以外に，圧搾水分量を減少させ，またなめらかな肌の外観を与える。口に入れるとしなやかな弾力のある食味で官能的にもカマボコとしての足が補強されたと判断され，その効果は澱粉とよく似ている (Fig. 3)。なお PVA を熱水に溶解させ粘稠な液としてすり身に加える実験を行なつたが，加熱肉は脆く，弾力のない水の出易いツミレ型のものとなる。これは予め糊化させた澱粉をすり身に加えた場合[2]と良く似ており，PVA も補強効果を現わすためには粒として肉中に混和されることが必要である。

2. アセタール化 PVA の効果

アセタール化した PVA を混和したカマボコは未処理 PVA を用いたものに較べ，ゼリー強度が高く，また固い感じを与える。しかし圧搾水分量も多くなり，口に入れた場合のしなやかさ，および弾力が低下する。この傾向はアセタール化の程度が進んだものほどはつきりと認められる (Fig. 4)。

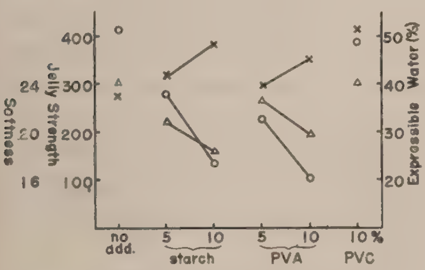


Fig. 3. Enhancing effect of polyvinyl alcohol particle.
×; Jelly strength
○; Softness
△; Expressible water

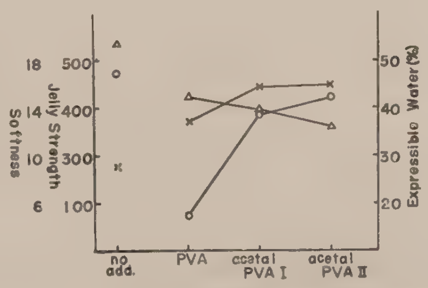


Fig. 4. Enhancing effect of acetal polyvinyl alcohol particles.
Degree of acetalization; II ＞ I.
×; Jelly strength
○; Softness
△; Expressible water

考　　　　察

A. 粒の機械的強度と補強効果

親水性がほとんど全くない PVC, PVdC, 海砂などの小粒子を加えると澱粉を混和したときのように，なめらかな，きめの細かいなめらかな肌は得られない。また外観的にも圧搾水分量からみても保水性は改善されない。さらに口に入れたときの触感が悪く，添加粒子のざらつきが残り，しなやかさ，弾力が出ない等，官能

的にはこれら粒子の混和によりカマボコの足の補強が行なわれたとは認められない。しかし，肉が固く締りゼリー強度計による肉のゼリー強度測定値が著るしく高くなることが認められる。すなわち親水性を持たなくても機械的に丈夫な粒子が肉中に入るとゲルのゼリー強度は高くなることが判る。

実験 A-1 では大きさのほぼ同じ3種類の粒子を用い，ゼリー強度を増加させる効果が PVC＞PVdC＞海砂の順に弱くなることを認めた。粒の比重を較べると海砂 2.2, PVdC 1.7, PVC 1.3 である。同じ大きさの粒子を同じ重量加えた訳であるから，肉中の粒子の数は海砂＜PVdC＜PVC の順に多くなるはずである。これは補強効果の順と一致し，粒子の数がゼリー強度の増強に関係があるように考えられる。しかし実験 A-2 でみたように粒子の大きさの違つた PVC の効果は $20\mu > 100\mu > 3\mu$ であり，粒子の数が一番多い 3μ が一番効果が小さい。このことからすれば単に粒子の数の多少のみでは説明しえない。他の考え方として粒子と肉蛋白との親和性が補強効果に関係することも考えられる。例えば肉と粒子がなじまなければプランジャーで押した場合互いにスリップしてゼリー強度が低く出ることも考えられる。しかし実験に用いた各粒子と肉との親和性については全く実験的根拠がないので想像の域を脱しない。

なお前述のように PVC の補強効果は粒の大きさで違い 20μ のものが一番大きいことをみた。ねり製品に使われている澱粉の澱粉粒の大きさは馬鈴薯 35μ，小麦大粒子 $20\sim35\mu$，玉蜀黍 15μ である。実験に用いた3種の粒子のうちゼリー強度の増強効果の一番大きかつた粒子の大きさがこれら澱粉粒の大きさに一番近いことは興味ある事実である。これに関連してゼリー強度を増強するのに好適な粒子の大きさが存在するのではないかとも考えられる。例えば同じ重量の粒子を肉に加えても，大きな粒子であれば肉中には少数の粒子が分散することになり，ゼリー全体の性質に粒子の影響は現われ難くなる。また粒子の大きさが極端に小さく構成分子の次元近くの大きさになれば，溶解した PVA のように肉蛋白の網目構造の形成を阻害することが考えられよう。

以上のように水と全く親和性のない粒子は，官能的に認められるいわゆる足の補強効果はないが，肉のゼリー強度を著しく増強する効果をもち，ゼリー強度の増強に関する限りでは機械的に強い粒子の存在が必要であることが結論される。

この点に関連して内田ら[3]の行なつた魚肉ソーセージの一種の腐敗である軟化に関する研究は非常に興味がある。これは澱粉含有魚肉ソーセージの内部が部分的に軟化（ゼリー強度が著るしく低下する）する現象で，有芽胞桿菌の一種の増殖によるものである。軟化部分と非軟化部分とを比較すると蛋白の分解は認められないが，澱粉の分解が認められる。すなわち軟化部分の澱粉粒はその表面は沃度反応を示さず僅かに中央部のみが反応し，澱粉粒が周辺から細菌により消化されることが明らかにされている。すなわち軟化が起るのは足の補強に与つていた澱粉が細菌の酵素作用により消化されて粒の機械的強度が低下したためであると推論されよう。我々は澱粉を混和したすり身にアミラーゼを加えて加熱を行ない，アミラーゼを添加した製品はゼリー強度が低下すること，低下の度合はアミラーゼ量に比例することをみた。加熱中に澱粉がアミラーゼの作用を受けて粒の機械的強度が低下したためと考えられよう。

B. 粒子の水和性と補強効果

PVA を粉末のまますり身に加えると加熱肉のゼリー強度は増強されるばかりでなく圧搾水分量は少なくなり，食味，外観が向上するなど澱粉と同じような足の補強効果を示す。上記 PVC 等とはその効果が著るしく違つている。PVA は水に浸漬すると水を吸収して膨潤をし，またこれを加熱すると粘稠な糊となることからも判るように水との親和性がきわめて強い。一方，PVA をアセタール化すると耐熱性，機械的強度が増加することはよく知られた事実であり，繊維工業ではビニールアルコール系繊維製造の際にアセタール化して耐熱性，機械的強度を附与している。しかし，この反面水和性は低下し本実験で用いた試料でも冷水中の膨潤性が減少し，加熱しても溶解しなくなる。このアセタール化することによつて PVA の肉のゼリー強度を増強させる効果は強くなるが，一方圧搾水分量を減少させる効果は小さくなる，また外観，食味を向上させる作用も弱くなつて官能的にみた足の補強作用が低下する。このようなことは粒子の水和性が食味，外観の向上にきわめて密接な関係があることを示すものである。すなわち肉中に，水を吸収固定し，弾力に

富むしなやかな粒子が存在すること，これがカマボコとしての食味の改善，弾力の増加となつて現れるものといえよう。

糊化した澱粉粒と未糊化澱粉粒の一番大きな相違は糊化した澱粉粒が水を吸収して弾力のあるしなやかな粒子であることである。澱粉が水和性の小さい粒子から水和性の大きいしなやかな粒子に変ること——糊化することがカマボコの食味，外観の改善を行なう大きな原因であることは，以上のことから推測される。またこの粒の機械的強度が高いものであれば，カマボコのゼリー強度が高くなることは先に論じたことからも容易に想像される。

以上この2種のモデル実験からなぜ澱粉がねり製品の足に対して補強効果を現わすためには粒のまま肉中に混和され，その状態で糊化される必要があるかの理由について一応説明を与えることができたと考えられる。なを，澱粉粒についてその水和性，機械的強度などの物理的な性質がその補強効果といかなる関係をもつているかの検討については次報で述べる。

要　　約

澱粉のモデル物質として澱粉粒とほぼ同じ大きさの海砂およびビニール系合成樹脂の小粒子を用い，ねり製品の足に対する補強効果を調べた。

水和性のない海砂，塩化ビニールおよび塩化ビニリデン粒子を混和すると澱粉の場合のような食味，外観の改善は認められないが，肉のゼリー強度は著るしく高くなる。

ゼリー強度を高くする効果は粒子の種類によつて違い，海砂＜塩化ビニリデン＜塩化ビユールの順が認められる。

塩化ビニール粒子の効果は粒子の大きさによつて違い，ゼリー強度を高くする効果は $3\mu < 100\mu < 20\mu$ の順に強くなる。

水和性のあるポリビニールアルコール粒子はゼリー強度を高くするとともに，カマボコとしての食味，外観を改善する効果をもち，澱粉の効果とよく似ている。

ポリビニールアルコールをアセタール化して水和性を低下させるとゼリー強度を高くする効果は増すが，食味，外観を改善する効果は弱くなる。

以上のことから肉中に埋没している粒子の機械的強度がカマボコのゼリー強度に大きな影響を持ち，粒子の水和性の大小がカマボコの食味，外観を改善する能力と密接な関係をもつことが推測された。

本研究を行なうに当り，いろいろと御指導戴いた石田正男先生，また合成樹脂試料の入手に御援助下さつた東海区水産研究所下崎吉矩技官に御礼申し上げる。

文　　献

1) 岡田・山崎： 本誌，**22**，583 (1957).
2) 岡田・山崎： 本誌，**23**，476 (1957).
3) 内山・田中： 本誌，**24**，148 (1958).

ねり製品の足に対する澱粉の補強効果—IV.

澱粉の物理的性質と補強効果

岡 田 稔・山 崎 惇 子

(1959 年 6 月 12 日受理)

ENHANCING EFFECT OF STARCH ON JELLY STRENGTH OF FISH MEAT JELLY—IV. RELATION BETWEEN PROPERTIES OF STARCH AND REINFORCING ABILITY

Minoru OKADA and Atsuko YAMAZAKI*

In the present paper, the properties of starch were investigated with particular reference to the ability reinforcing jelly strength of fish meat jelly.

In order to prepare starch samples with different properties, starches were modified to different degree by oxidation with hypochlorite or by aldehyde treatment. It was supposed that aldehyde treatment strengthened the granule by forming methyleneoxide bridge between starch molecules, and that starch grain was weakened by oxidation as a result of disintegration of amorphorous spots of granules.

Besides measuring pasting characteristics, strength of granules of modified starch samples were presumed from shape of cooking curve of viscogram by the Brabender Amylograph. Water imbibing ability of starch granules was determined by sedimentation volume.

Oxidized sample decreased in power reinforcing the jelly strength of Kamaboko with the increasing degree of treatment. The addition of aldehyde starch was more effective in enhancing the jelly than unmodified starch. It might be noteworthy that aldehyde potato starch had a distinct effect on enhancing the jelly strength, though it had less affinity for water.

From these facts, it was deduced that strength of starch granules had close relation with its ability reinforcing jelly strength, and that improvement of palatability and appearance of Kamaboko was done by action of water uptake of starch granules on pasting.

前報[1),2),3)]において澱粉が肉中で粒のまま糊化することが補強効果を現わすことに必要であること，および肉中に埋没している粒子の機械的強度および水和性がゼリーの性状に大きな影響を持つていることが推測されたので，澱粉を用いて粒子の物理的性質と補強効果との関係を求めることとした。

粒の物理的性質が異なる澱粉試料として馬鈴薯，小麦など，種類の異なつた澱粉を用いることも考えられるが，澱粉の種類によつて澱粉粒の大きさ，成分にはかなりの差があることが知られている (Table 1)。澱粉の性質がその種類によつて差があるのはこれら粒の大きさ，成分の相違によるも

Table 1. Properties of different starch varieties[4].
澱粉の種類による性質の差

	Potato	Wheat	Corn
Mean size of starch grain (μ) 粒の大きさ	35	13	16
Gelatinization temperature (°C) 糊化温度	61.5	68.5	65.0
Phosphorous content 燐合量	0.095	0.03	0.12
Fatty acid content 脂肪酸合量	0	0.50	0.84

* 東海区水産研究所 (Tokai Reg. Fish. Res. Lab. Chuō-ku, Tokyo, Japan).
東海区水産研究所業績 B 第 315 号

のか，または澱粉粒自体の物理的性質の差によるものかは現在の澱粉化学の知識では不明である。それ故，澱粉試料として異種の澱粉を用いて実験することは問題が複雑となる。一方澱粉を薬品で処理すると粒を破壊することなしにその物理的性質を変化させうることが知られている。そこで同一種類の澱粉を用い，種々の段階に薬品処理を施して澱粉粒の性質を変えて実験試料となし，その補強効果をしらべることとした。

実 験 方 法

I. 薬品処理澱粉の調製

1. 酸 化 澱 粉

酸化剤としては次亜塩素酸ソーダを用いた。次亜塩素ソーダ溶液は弱アルカリ性を示し，澱粉が膨潤糊化する恐れがあるので塩酸で中和して用いた。酸化剤の使用が多い程酸化の段階が進むことが知られているので，武富・鈴木の方法[5]に準じ，澱粉1グルコース残基（162g）当り，0.025～0.2 当量の塩素に相当する中和次亜塩素酸ソーダを加え，室温で 18 時間作用させて酸化馬鈴薯澱粉5種を調製した。

酸化玉蜀黍澱粉は日本食品化工 KK. 研究室に依頼して同様に酸化の程度の異なる試料3種を調製した。

2. アルデヒド処理澱粉

アルデヒドとしてはホルムアルデヒドを用いた。すなわち通常のアルデヒド処理澱粉の製法[6]にしたがい澱粉 100g 当り 0.2～1.2g のホルムアルデヒドを室温，塩酸微酸性で 18 時間作用させてアルデヒド処理馬鈴薯澱粉4種を調製した。アルデヒド玉蜀黍澱粉はこれに準じて日本食品化工 KK. 研究室に依頼調製した。

これらの酸化，アルデヒド処理を施した澱粉を顕微鏡観察したが，澱粉粒の破壊，膨潤等の変化は起きていないことが認められた。また粒の複屈折の喪失が起きていないことから糊化されていないと判断される。

II. 澱粉粒の物理的性質の判定

1. 澱粉の一般的性質および粒の機械的強度の判定

澱粉の一般的性質および澱粉粒の機械的強度の判定はアミログラムによつた。すなわち加熱による澱粉の糊化現象を追跡する機械，Brabender Amylograph を用いアミログラムを求めた。この機械は攪拌器をそなえた容器中で澱粉と水の混合物を一定速度で温度を上げながら攪拌しつつ加熱を行ない，攪拌器の受ける抵抗を加熱時間に対し自記的に記録させて粘度曲線（アミログラム）を得る一種の粘度計である。加熱温度が一定の終末温度（通常 95°C）に達したなら糊をその温度に保つことも，また一定速度で温度を下げて冷却しその間の粘度の変化をしらべることもでき，澱粉の一般的性質をみるのに適している。アミログラムの解釈[1]は容易ではないが，冷却曲線はいわゆる澱粉糊（糊化してできた澱粉溶液に膨潤澱粉粒の破片が浮遊したもの）の性質を示すもので，澱粉粒の性質を推定するには用いられない。しかし，加熱曲線は澱粉粒の物理的性質と密接な関係があることが知られている。すなわち加熱曲線の上昇部分は澱粉粒が膨潤して行く現象を現わすものである。加熱曲線に下降部分が現われるのは膨潤した粒が攪拌操作によつてこきさかれるためであることが顕微鏡観察により確かめられている。したがつて加熱曲線に高い山が出ることは澱粉粒が崩れ易い，機械的強度が弱いことを示している。また粘度の急激に上昇しはじめる温度，糊化開始温度の低いことは澱粉粒中における澱粉分子の結合状態の弱いことを示すものと考えられている。以上のことからアミログラムを求めることにより澱粉の一般的性質を知ることはもちろん，またその加熱曲線を比較すれば澱粉粒の機械的強度についての知識もえられると考えられる。そこでアミログラムを求め薬品処理した澱粉試料の性質を判定することとした。

2. 澱粉粒の吸水性の判定

澱粉粒は糊化する際，水を吸収して著しく膨潤する。そこで多量の水の存在下で澱粉の膨潤量を測定すればその吸水性の目安が与えられると考えた。ただし澱粉粒が操作中崩壊しないことが前提となる。このため澱粉懸濁液を入れた容器を軽く振盪しながら 85°C の湯浴中に 20 分浸漬して加熱を行ない，得られた澱粉糊をシリンダーに移し一晩放置後沈澱容積を測り膨潤量を求めた。膨潤量と澱粉濃度との関係を求

めると 1～2% の間では直線的関係がある (Fig. 1)。この実験では澱粉の濃度は 2% に決めて沈降量を測定し，溶液に対する容量 % で膨潤量を現した。なお顕微鏡観察により澱粉粒の状態をチェックしたが，通常の未処理澱粉では上記の操作で澱粉粒はほとんど破壊することなく膨潤することが認められ，この方法で求めた膨潤量を澱粉粒の吸水能力の目安となしうると考えた。

III. 補強効果の判定

前報[2] 同様クロカワ＋キハダの塩ずり肉に澱粉試料 10% を混和，80°C, 45 分間加熱，一晩放冷後，官能検査および物理的測定によつて補強効果を判定した。

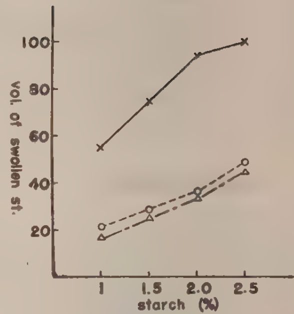


Fig. 1. Swelling of starch.
×: potato starch.
○: wheat starch.
△: corn starch.

実 験 結 果

1. 馬鈴薯酸化澱粉（吸水性は変化せず，粒の機械的強度が低下した澱粉）

アミログラム　未処理澱粉ではアミログラム (5%) の加熱曲線に山が認められないが，酸化処理したものには山が現われるようになる。しかも酸化の段階が進む程山の形は鋭どくなり，山の高さはしだいに低くなる (Fig. 2)。これは酸化の進んだもの程，粒が膨潤し易くなり，しかも膨潤した粒が攪拌によつて崩壊されやすくなつたことを示すもので，酸化処理が進むほど澱粉粒の機械的強度は弱くなるものと推定される。

膨潤性　軽度の酸化処理をしても膨潤量は増加して膨潤量は100% に達してしまい，その後の変化が判らない。顕微鏡観察結果では処理によつて粒の膨潤状態はほとんど変らない。ただ処理が進むと（試料 D, E），膨潤量がやや減り，顕微鏡観察すると大粒子が崩壊して小粒子のみが残つている。この膨潤量の減少は澱粉粒，特にミセル構造の弱い大形澱粉粒の機械的強度が低下したことによるものと考えられ，アミログラムの挙動と一致する。

以上のことから，馬鈴薯澱粉はある程度の酸化処理では吸水性には大きな変化は起らないが，粒の機械的強度は低下するものと考えてよかろう。

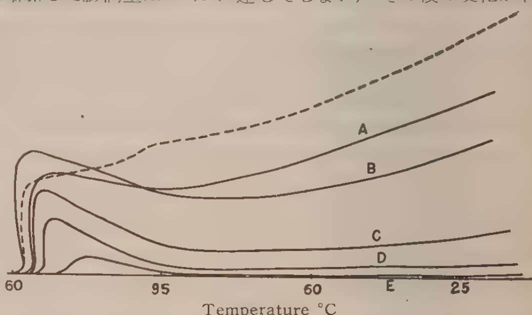


Fig. 2. Amylogram of oxidized potato starch samples. Degree of treatment increased A → E. Broken line represented of unmodified starch.

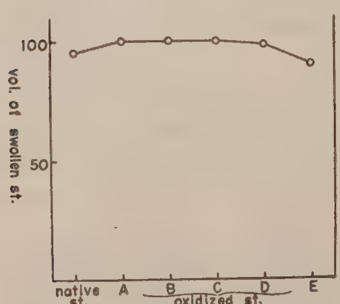


Fig. 3. Water imbibing ability of oxidized potato starch samples.

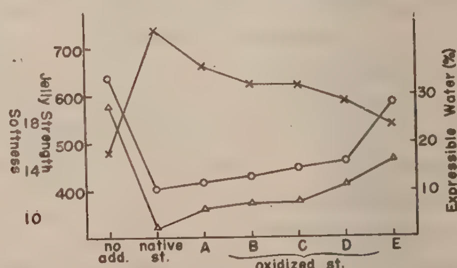


Fig. 4. Enhancing effect of oxidized potato starch samples.
×; Jelly strength. ○; Softness.
△; Expressible water.

補強効果　酸化澱粉を入れたカマボコは，未処理澱粉のそれに較べて弾力が弱く，しまりが足りない。この傾向は酸化の段階が進む程著るしく，酸化の程度の高い試料 D や E では澱粉を入れた影響がはつきり認められなくなる。このことはゼリー強度の測定でも認められ，酸化の進んだものほど肉のゼリー強度は低下し，軟かさの値，圧搾水分量がふえていく (Fig. 4)。

2. 玉蜀黍酸化澱粉（吸水性は増加，機械的強度が低下した澱粉）

アミログラム　粘度がきわめて低いため，7% 澱粉濃度ではアミログラムが画けない。そこで澱粉濃度を 15% に上げてアミログラムを求めた (Fig. 5)。冷却曲線には高い粘度がみられず，加熱曲線に顕著な山が認められる。酸化の進むにつれ山の高さは低くなり，また左に移動して糊化開始温度が低くなることが判る。このことから酸化が進んだもの程，澱粉粒内のミセル構造がゆるみ機械的強度が弱くなつていることが窺われる。

膨潤性　膨潤量は未処理に較べて著るしく増加するが (Fig. 6)，顕微鏡で観察すると酸化の進んだものほど膨潤粒の数が少なくなり，特に試料Cでは粒が崩壊して粒の存在はほとんど認められない。粒が膨潤と同時に分散して溶液となつてしまうためであろう。また試料Cの濃厚溶液（20%）は冷却してもゲルを形成しなくなる。

以上のことから玉蜀黍酸化澱粉は膨潤性—吸水性は大きくなるが，粒の機械的強度は逆に低下すると判断される。

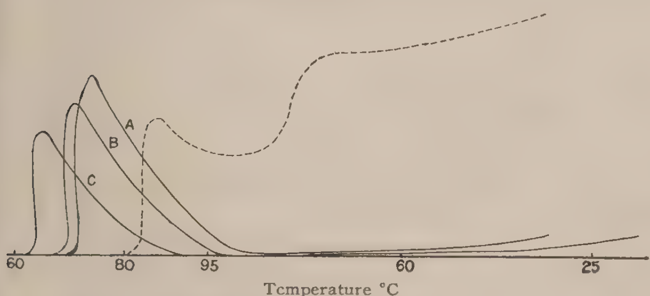


Fig. 5. Amylogram of oxidized corn starch samples. Degree of treatment increased A → C.

補強効果　酸化の進むにつれて補強効果は弱くなり，肉のゼリー強度は低下する。特に酸化の進んだ試料Cでは弾力のあるカマボコとはならず，脆い水の出易い“ツミレ”を作り，足の形成を阻害する場合もある (Fig. 7)。

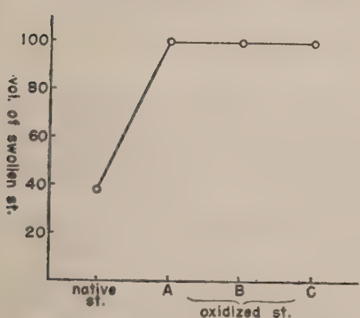


Fig. 6. Water imbibing ability of oxidized corn starch samples.

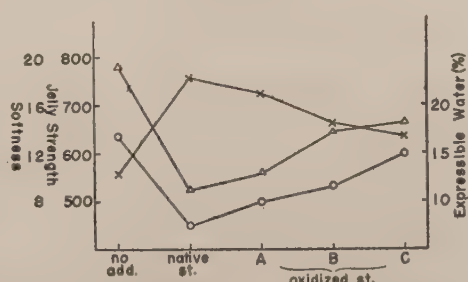


Fig. 7. Enhancing effect of oxidized corn starch samples.
×; Jelly strength.　○; Softness.
△; Expressible water.

3. 玉蜀黍アルデヒド処理澱粉（吸水性は変らず，機械的強度が高くなつた澱粉）

アミログラム　加熱温度が 95°C に達してから 30 分間その温度で測定を続けると，未処理玉蜀黍澱粉（7%）では粘度曲線に山が現われてくる。アルデヒド処理が進むとこの山が認められなくなり，また粘度が高くなる (Fig. 8)。これは膨潤粒が撹拌によつて破壊され難くなることを意味し，アルデヒド処理により粒の機械的強度が高くなるものと判断される。

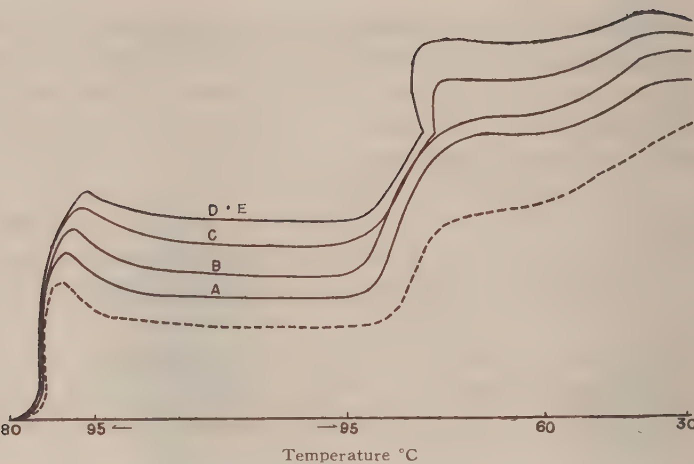


Fig. 8. Amylogram of aldehyde corn starch samples. Degree of treatment increased A → E.

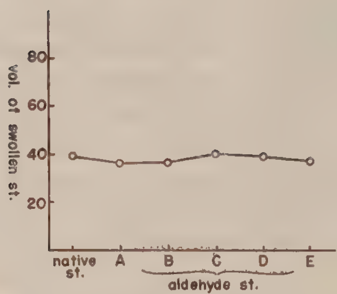


Fig. 9. Water imbibing ability of aldehyde corn starch samples.

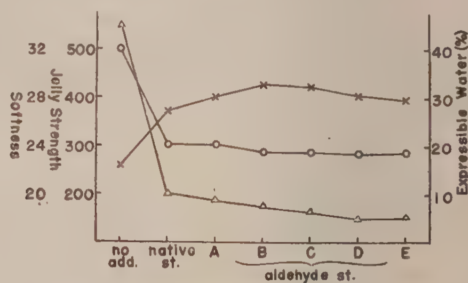


Fig. 10. Enhancing effect of aldehyde corn starch samples.
×; Jelly strength. ○; Softness.
△; Expressible water.

膨潤量　処理による膨潤量の変化はほとんど認められず，未処理澱粉とほぼ同じである (Fig. 9)。また顕微鏡観察によつても膨潤の様相に差はみられない。このことから粒の水を吸収する能力はアルデヒド処理をしても変化を受けないと考えられる。ただし，未処理澱粉でも玉蜀黍澱粉は馬鈴薯澱粉に較べ膨潤量がきわめて小さいことは興味ある事実である。

以上のことから玉蜀黍澱粉はアルデヒド処理により，澱粉粒の吸水性は変化をを受けないがその機械的強度を増すと考えられる。

補強効果　処理澱粉を入れた肉はやや固さを増し，歯切れがよく弾力が強くなる。ゼリー強度の測定でもこの傾向が認められるが，処理がある程度進むとゼリー強度はやや低下するようである (Fig. 10)。

4. 馬鈴薯アルデヒド処理澱粉（吸水性が低下，機械的強度の高くなつた澱粉）

アミログラム　アルデヒド処理した馬鈴薯澱粉は粘度曲線が次第に低下し，また上昇曲線の傾斜がゆるくなる。処理が進んだものでは粘度曲線に上昇部がほとんど見られない (Fig. 11)。このようなことはアルデヒド処理により澱粉粒が膨潤し難くなつたことを示すものと思われる。

膨潤性　膨潤量は処理の進むにつれて減少することが認められ (Fig. 12)，アミログラムの挙動と一致する。また顕微鏡観察を行なつても粒が膨潤し難くなることが観察された。なお処理の進んだもの（試料D）の膨潤量は未処理の玉蜀黍，小麦澱粉の値よりやや小さい。

このように馬鈴薯澱粉をアルデヒド処理すると粒の膨潤は低下し吸水性が少なくなることが推測されるが，粒の機械的強度の変化はこの実験のアミログラムからでは判断できない。しかし，他の実験で得たアミログラムでは加熱中の澱粉粒の崩壊が抑えられる結果*(第V報，Fig. 1) が得られているので，粒の機械的強度はアルデヒド処理により強められると思われる。これらの事実からアルデヒド処理によつて粒の吸水性は低下し，機械的強度は増すものと判断した。

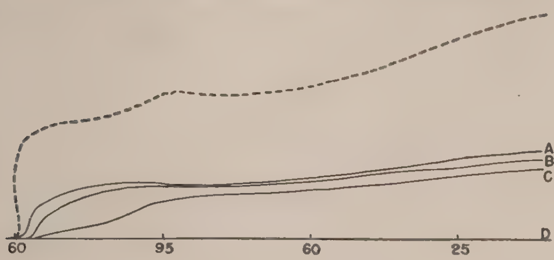


Fig. 11. Amylogram of aldehyde potato starch samples. Degree of treatment increased A → D.

補強効果　未処理澱粉に較べて歯切れがよくなり，官能的には弾力も増して補強効果が強くなつたと判断されるが，ゼリー強度の測定では処理による変化はほとんどなく，軟かさの値が少なくなることが認められる (Fig. 13)。

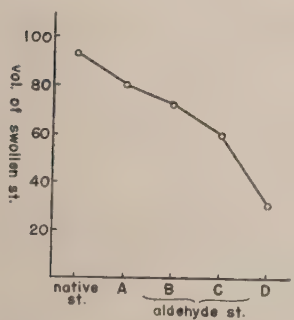


Fig. 12. Water imbibing ability of aldehyde potato starch samples.

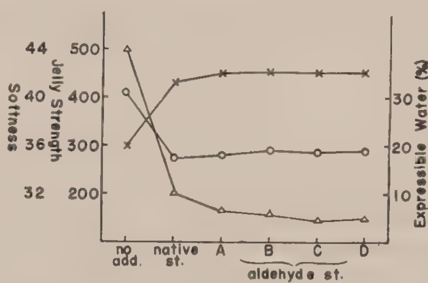


Fig. 13. Enhancing effect of aldehyde potato starch samples.
×; Jelly strength. ○; Softness.
△; Expressible water.

考　　　　察

酸や酸化剤で澱粉を処理すると澱粉糊の粘度が著しく低下するので，いわゆる thin-boiling starch として各方面で大量に使用されている。このような澱粉はその澱粉粒は複屈折を示し外観的には未処理澱粉と変りはないが，水中で糊化させると膨潤と同時に粒がばらばらに崩れ低粘度の糊を作るのが特徴である。酸や酸化剤が澱粉粒中の非晶形部分を選択的に攻撃しミセル間の結合を弱めるためと解釈されている。

また澱粉をアルデヒド処理すると澱粉分子間にメチレンオキサイド橋 (–O–CH_2–O–) が形成され，粒の構造がこれによつて強められるとされており，事実アルデヒド処理をすると粒の機械的強度が強くなることを示すアミログラムが得えらる。またアルデヒド処理が強くなると澱粉粒中のミセル間の結合が強められ水のとり入れが妨害されて膨潤しなくなるといわれているが，馬鈴薯澱粉の場合にはこの現象がはつきり認められた。なを，玉蜀黍澱粉ではこの現象がみられなかつたが，その理由については判らない。

このように酸化またはアルデヒド処理など適当な薬品処理を施すことにより，同一種類の澱粉を用いて粒子の物理的性質の違う試料をえようとする当初の目的は達成することができた。このようにしてえられた澱粉粒子の物理的性質と補強効果との関係を定性的ではあるがまとめてみると Table 2 のようになる。この

* このようにアミログラムの様相が違つたのは未処理澱粉の粘度曲線からみて澱粉の濃度が違うことも原因の一つと考えられる。

Table 2. Relation between properties of starch granules and their reinforcing ability.

Modified method 処理方法		Properties of starch grain 澱粉粒の性質		Properties of Kamaboko 加熱肉の性状			
		Mechanical strength 機械的強度	Water imbibing ability 吸水性	Jelly strength ゼリー強度	Softness 軟かさ	Water retention 保水性	Organoleptic judge 足の強さ
Potato starch 馬鈴薯澱粉	Unmodified 未処理	++	++	++	++	++	++
	Oxidation 酸化	+	++	+	+++	+	+
	Aldehyde treatment アルデヒド処理	(+++)	+	+++	+	++	+++
Corn starch 玉蜀黍澱粉	Unmodified 未処理	++	++	++	++	++	++
	Oxidation 酸化	+	+++	+	+++	+	+
	Aldehyde treatment アルデヒド処理	+++	++	+++	+	++	+++

Property of unmodified starch as standard was shown as ++.

表から，カマボコとしての足の強さ，および加熱肉のゼリー強度の大小は澱粉粒の機械的強度の大小と相関があること，また澱粉粒の機械的強度は加熱肉の軟かさと逆相関であることが認められる。しかし，粒の吸水性と肉の保水性（圧搾水分量で判定した）との間にはつきりした関係は認められない。

澱粉を用いた本実験でも，前報[3]のモデル実験で得られた“肉中に埋没している粒子の機械的強度が肉のゼリー強度と密接な関係がある”という推論が確かめられたといえよう。また粒の吸水性の大小は官能的に判断した足の強さとも，物理的測定による保水性とも相関が認められないこと，さらに馬鈴薯アルデヒド澱粉のように粒の吸水性が低下しているにも拘わらずかなり強い補強効果を持つていることを考えると，澱粉が粒中に水を吸収しうる能力の大小は補強効果とは特に関係がないように思われる。食味，外観を向上させるためには，澱粉粒が糊化して弾力のある粒子に変わるのに必要な程度の吸水能力があれば充分であると考えられる。なおこの点に関連し，本研究では肉に加える水の量を 30 %とし澱粉添加量 10%（カマボコの水分 78% 前後）として実験を行なつているが，肉に加える水の量を変えた場合には，澱粉粒の吸水性の大小も補強効果の強弱に関係することが考えられる。例えば Fig. 1 でみたように小麦澱粉の吸水性は馬鈴薯に較べて非常に小さい。志水等[7]は小麦澱粉は加水量を多くした場合に澱粉の補強効果が馬鈴薯澱粉に較べて低下し易いことをみているからである。

以上前報からの実験結果より澱粉の補強機作についてつぎのように結論されよう。

1. 澱粉が足の補強効果を現わすためには，肉中で澱粉粒のままで糊化されることが必要である。

2. 糊化にあたり澱粉粒が肉中の水をひき入れて水和性の大きなしなやかな弾力のある粒子とかわり，食味，外観の改善に関与する。しかし澱粉粒の吸水性の大小は補強効果と特に関係はなく，粒の水和性は糊化することにより満足される。

3. 澱粉粒の機械的強度はねり製品のゼリー強度および足の強さと密接な関係をもち，肉中に埋没している澱粉粒の機械的強度が肉のそれより大きくなれば，ねり製品の足は増強される。

要　　　約

1. 澱粉粒の物理的性質と，そのカマボコの足に対する補強効果との関係を求めるため，同一種類の澱粉をいろいろの段階に薬品処理して粒の物理的性質を変え，その補強効果をみた。

2. 馬鈴薯澱粉を酸化すると，粒の吸水性は変らないが機械的強度が低下し，補強効果は酸化の進んだも

のほど弱くなる。

3. 玉蜀黍澱粉を酸化すると，粒の吸水性は増加するが機械的強度は低下し，補強効果も弱くなる。

4. 馬鈴薯澱粉をアルデヒド処理すると，粒の吸水性は低下するが機械的強度は増すと考えられ，補強効果は強くなる。

5. 玉蜀黍澱粉をアルデヒド処理すると，粒の吸水性はほとんど変化しないが機械的強度は増大し，補強効果も強くなる。

6. 澱粉粒の機械的強度の大小はこれを添加したカマボコのゼリー強度と密接な関係があり，足の補強効果の大小と一致する。澱粉粒の吸水性はある程度あれば充分であり，その大小と足の補強効果との間にははっきりした関係は認められない。

7. 第I報から本報までの実験結果から，澱粉がカマボコの足の補強効果を現わすためには澱粉粒が肉中に埋没したままで糊化することが必要であり，糊化にあたり肉中の水を吸収，固定して水和性の大きな粒子とかわるため食味，外観を改善し，また澱粉粒の機械的強度が魚肉のそれよりも大きくなるためゼリー強度，弾力を増強するものと考えられる。この2つの作用が澱粉がねり製品の足を補強する主な機作と推論される。

本研究を行なうにあたり，御指導戴いた右田正男先生，玉蜀黍澱粉試料を調製して下さつた日本食品化工KK. 研究室，またアミログラフを使用させて下さつたお茶の水大学福場助教授，および味の素KK. 食品研究室の諸氏に厚く御礼申し上げる。

文　　献

1) 岡田・山崎：本誌，**22**，583 (1957).
2) 岡田・山崎：本誌，**23**，476 (1957).
3) 岡田・山崎：本誌，**25**，435 (1959).
4) G. W. SCOTT BLAIR: Foodsfuffs, 1～34 (1953)., NORTH-HOLLAND Pub.
5) 武富・鈴木：工業化学雑誌，**57**，148 (1954).
6) R. W. KERR: Chemistry and Industry of Starch, 73 (1950)., ACADEMIC Press.
7) 志水・清水：本誌，**20**. 895 (1955).

ねり製品の足に対する澱粉の補強効果—V.

薬品処理澱粉の利用

岡 田 稔・山 崎 惇 子

(1959 年 6 月 12 日受理)

ENHANCING EFFECT OF STARCH ON JELLY STRENGTH OF FISH MEAT JELLY—V. APPLICATION OF MODIFIED STARCH TO KAMABOKO MANUFACTURE

Minoru OKADA and Atsuko YAMAZAKI*

It seemes that starch with any desired enhancing effect can be obtained by modifing to appropriate thick or thin boiling starch. For example, reinforcing ability of starch can be strengthened by aldehyde treatment, a method of preparing thick boiling starch. And, thin boiling starch such as oxidized or acid modified starch is suitable for large amount addition without lowering the quality of Kamaboko.

水産ねり製品の製造の際用いられる澱粉は主に馬鈴薯および小麦澱粉で，甘藷，玉蜀黍澱粉はごく一部で使われるに過ぎない。しかし馬鈴薯澱粉はゼリー強度を高くするが固く締り過ぎるとか，小麦澱粉は逆に締りが悪く足が弱いといわれ，澱粉の種類によつて補強効果の様相が大分違つている。また澱粉を多量に添加すると澱粉団子のような食味となり，ねり製品としての風味が著しく悪くなる。澱粉はその種類特有の物理的性質を持ち，糊化した後でもその特徴を残していることからすれば，単一の種類を用いて補強効果の様相を変え，また食味の違つた製品をつくることは難かしいと考えられる。このためには馬鈴薯と小麦というように種類の違う澱粉を混合して使用することも一つの方法であろう。前報[1]で澱粉を薬品で処理すれば粒の機械的強度，吸水性等物理的性質の種々違つた澱粉を作ることができ，その補強効果も違つてくることを明らかにした。単一澱粉を用いても適当な薬品処理を施すことにより，製造目的に応じ補強効果の様相の違つた澱粉を使用することが可能となり，さらに肉蛋白と澱粉を組合せた新しい製品の製造もできるようになることが推測される。

実　　験

1. 薬品処理澱粉の調製

馬鈴薯，小麦，玉蜀黍の 3 種の澱粉を用いアルデヒド，酸化，および酸処理を行つた。

A. アルデヒド処理——塩酸微酸性で HCHO を 18°C, 24 時間作用させる。

B. 酸化処理——塩酸で中和した晒白粉溶液に澱粉を 18°C, 1 時間浸漬する。

C. 酸処理——硫酸の 0.1 規定液中に澱粉を 50°C で 5 時間浸漬する。

薬品処理の終つた澱粉はよく水洗し風乾して試料とした。いずれの場合も澱粉粒の破壊は行われず，粒の複屈折性も消失していない。前報[1]同様アミログラムを求めて澱粉の一般的性質を見た。

2. 澱粉の補強効果の判定

グチの塩ずり肉に澱粉試料を 10% 加え，これをケーシングに詰めて 80°C の湯に 45 分間浸漬して加熱を行ない，一晩放冷後補強効果を調べた。すなわち官能的に判定するとともに三宅式ゼリー強度計によつて物理的測定を行い，同時に圧搾水分量を求めた。

---

* 東海区水産研究所 (Tokai Reg. Fish. Res. Lab. Chuō-ku, Tokyo, Japan).

東海区水産研究所業績 B 第 316 号

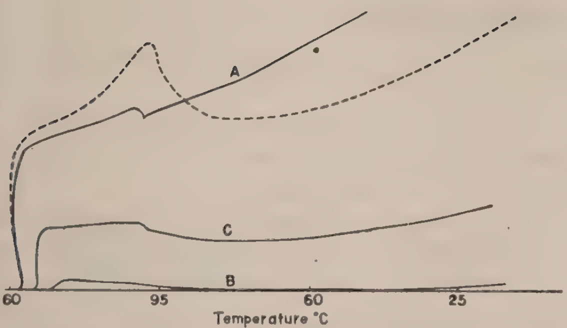


Fig. 1. Amylogram of modified potato starch samples.
A; Aldehyde starch. B; Oxidized starch.
C; Acid modified starch.
Broken line represented of unmodified starch.

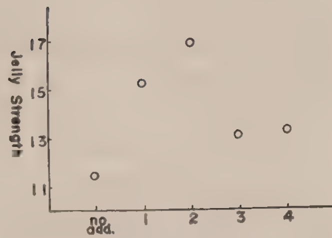


Fig. 2. Enhancing effect of modified potato starch samples.
1; Unmodified starch.
2; Aldehyde starch.
3; Oxidized starch.
4; Acid modified starch.

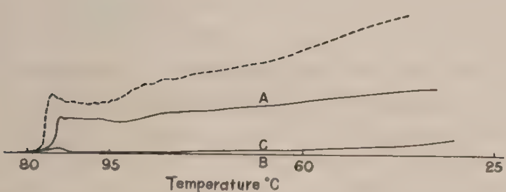


Fig. 3. Amylogram of modified wheat starch samples.
A; Aldehyde starch. B; Oxidized starch.
C; Acid modified starch.

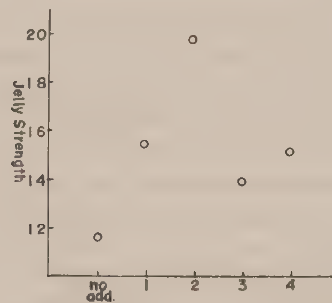


Fig. 4. Enhancing effect of modified wheat starch samples.
1; Unmodified starch.
2; Aldehyde starch.
3; Oxidized starch.
4; Acid modified starch.

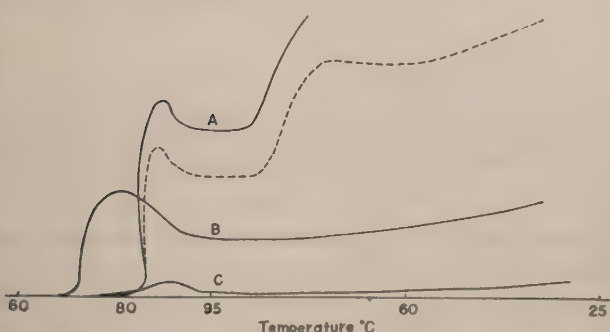


Fig. 5. Amylogram of modified corn starch samples
A; Aldehyde starch. B; Oxidized starch.
C; Acid modified starch.

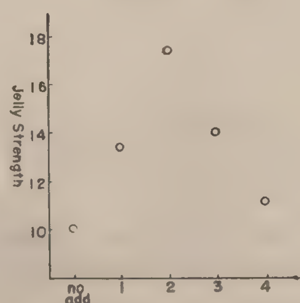


Fig. 6. Enhancing effect of modified corn starch samples.
1; Unmodified starch.
2; Aldehyde starch.
3; Oxidized starch.
4; Acid modified starch.

実験結果および考察

薬品処理した澱粉のアミログラムおよびこれを混和したカマボコの物理的性質を Fig. 1～6 に示す。薬品処理を施すと澱粉の補強効果が非常に違つてくる。

澱粉の種類を問わずアルデヒド処理すると補強効果を増し，特に官能検査をした場合のカマボコの締り，および歯切れがよくなる。また酸化または酸処理した澱粉では肉のゼリー強度は低下し，カマボコの締りは弱くなるが柔く，また普通の澱粉のようにネチネチしたいわゆる澱粉味を感じない。

このことから肉の締りが悪く，ゼリー強度を高めるのに難がある小麦澱粉にはアルデヒド処理*を施せばこの点は改善されるし，固く締りすぎるといわれる馬鈴薯澱粉は軽い酸化または酸処理をすれば，柔い食味のよい製品ができることが考えられる。また酸化や酸処理を施した澱粉は補強効果は弱いが，いわゆる澱粉味（粉つぽい食味）が少いので肉に多量に澱粉を混和するさいの食味の低下を防ぐのに適している。

なを澱粉を含有するカマボコ類の保蔵性をまさせるために，薬品を用いてあらかじめ澱粉を殺菌する方法が考えられている[2),3)]。しかし殺菌剤として酸[2)]や酸化剤[3)]を用いる場合には本実験結果から澱粉の補強効果を低下させる恐れがある。したがつて澱粉の殺菌を行うには，補強効果の面をも併せ考えて検討する必要があろう。

従来甘藷澱粉はねり製品の製造に使用されることはほとんどなかつたが，これは甘藷澱粉は色が黒いため，色の白いことが好まれるカマボコには向かないという理由もあるが，補強効果が弱いことが大きな原因と考えられている。澱粉の白度の向上は澱粉製造工程の改良により達せられるし，また補強効果の弱いこともアルデヒド処理等適当な薬品処理を行なえば改善することができよう。これらの点につき研究が進めば従来使用されなかつた甘藷澱粉を水産ねり製品に使用することができるようになり，生産過剰で困つている甘藷澱粉の直接利用面を開拓する１つの道となろう。しかし同一処理を施しても澱粉の種類によつてその影響が違うことが経験されている。例えばアルデヒド処理により馬鈴薯澱粉の吸水性は減少するが，玉蜀黍澱粉ではほとんど変化しない[1)]。また同一種類の澱粉でも薬品処理の条件が少しでも変ると処理澱粉の性質が大きく違つてくることも知られている。

以上のことから薬品処理澱粉を使用するには，個々の澱粉について，それぞれの薬品処理方法について精しく研究する必要があり，澱粉専門家と協同して行なうべき今後の研究課題であろう。

薬品処理澱粉は水産ねり製品に限らず他の食品でも大いに利用しうると考えられる。例えばソバ，ウドン等の麺類やパン等は澱粉が粒のまま混和され，しかも加熱中に攪拌されることなしに糊化する食品であるが，澱粉が粒のまま存在すると考えられ，カマボコの場合と同様澱粉粒の性質がこれら食品の物理的食味に大きな影響をもつことが想像される。したがつてこれら食品の品質改善法として薬品処理澱粉を利用することはかなりの期待がかけられよう。

要　　約

澱粉を薬品処理すれば，粒の物理的性質を変えることができ，ねり製品の足の補強効果を変えることができる。ねり製品の製造に当り，製造目的に応じて補強効果のちがつた澱粉を用いるため，薬品処理澱粉の使用を提案した。

本研究を行なうにあたり御指導戴いた有田正男先生，アミログラフを使用させて下つたお茶の水大学福場助教授並びに味の素 KK 食品研究室の諸氏に厚く御礼申し上げる。

文　　献

1) 岡田・山崎: 本誌，**25**，440 (1959).
2) 横関・大島: 北海道水試報告 No. 7, 1 (1950).
3) 曾々木: 本誌，**23**，793 (1958).

* 実際に使用する場合にはホルムアルデヒドの代りに毒性のないアセトアルデヒド等を用いるべきである。

食品の鮮度測定法に関する研究—XI.
組織中のヒスタミンの一新定量法

津田 厚・富山哲夫

(1959 年 6 月 15 日受理)

STUDIES ON THE METHOD FOR TESTING THE SPOILAGE OF FOOD—XI.
A NEW METHOD FOR DETERMINATION OF HISTAMINE IN TISSUES

Atsushi Tsuda and Tetuo Tomiyama*

The method herein reported employs Amberlite IRC–50 (H–form) for separating histamine (Hm) from interfering substances in a trichloracetic acid extract of sample tissue. Hm which is adsorbed on the ion exchanger at pH 4.6 is eluted with 0.2N HCl, treated with nitrous acid, and freed from ammonia by vacuum distillation in alkaline reaction. Hm azo pigment which is formed by coupling with *p*–nitrobenzene diazonium chloride at pH 9 can be extracted with ethylacetate, the extract being dehydrated with anhydrous sodium sulfate. Shortly after a small amount of ammonia being added, the absorbance of the azo pigment solution is to be determined at 550 mμ by a Beckman spectrophotometer or an electrophotometer using a filter of 570 mμ.

The recovery of Hm included in several muscle tissue extracts was found 96 to 106%. It was found that the Hm content of mackerel flesh ran parallel with bacterial counts and showed a marked change with quality of the flesh as compared with total volatile bases nitrogen.

太田氏法[1] による肉組織中の Histamine (Hm) の定量は，定量阻害物質の除去なしでは正確な結果を与えないことを前報[2] で明らかにした。定量誤差の最も少ない方法として前報で提案したものは，供試抽出液から Amberlite IRA–400 (OH 型) によつて阻害物質を除去するのに時間がかかる不便をもつていた。

依つて本報では Amberlite IRC–50 を用いる方法を研究した。その結果，ヒスチヂン，チロシン等のアミノ酸を比較的多量含む魚肉中の微量の Hm を定量できる一新法を完成した。本法ではこの新定量法の設定に導いた基礎研究，並びにこの方法を用いて魚肉の腐敗過程をしらべた結果を報告する。

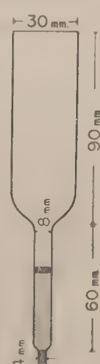


Fig. 1. Column for separation of Hm.

定量方法

1. 器具 (a) Column: Fig. 1 に示す大きさのものを用いた。(b) Amberlite IRC–50 (100 mesh): 30～60 mesh のものを乳鉢で摺りつぶし，60～100 mesh のものを集め，水洗いによつて微細粒子を除いて使用する。(c) 光電比色計あるいは分光光度計。(d) Waring blender.

2. 試薬 (a) Hm 標準液: Hm·2HCl の 100 mg を 0.1N HCl にとかし，100 cc に定容して冷蔵庫に保存する。(b) 酢酸エチル。(c) 1% 炭酸ソーダ。(d) 炭酸ソーダ緩衝液: 4g の炭酸ソーダと 2g の重炭酸ソーダとを蒸溜水にとかして 100 cc とし，密栓して保存する。(e) 15% 亜硝酸ソーダ。(f) 5% 苛性カリ。(g) 0.2N 塩酸。(h) 1N 塩酸。(i) 0.1% *p*-nitroaniline: *p*-nitroaniline の 1g を 1 *l* の 0.1N 塩酸にとかす。(j) 8% 三塩化酢酸。(k) 2N 酢酸緩衝液 (pH 4.6): 120g の氷酢酸と 40g の苛性ソーダを蒸溜水にとかして 1 *l* とする。(l) 0.2N 酢酸緩衝液 (pH 4.6):

* 九州大学水産化学教室 (Lab. Fish. Chem., Fac. Agr., Kyushu Univ., Fukuoka).

2N 酢酸緩衝液を 10 倍にうすめる。(m) 脱水芒硝。(n) 濃アンモニヤ水。(o) 10% 苛性ソーダ。(p) 0.05% thymol blue 水溶液。

3. 定量操作

1) 試料抽出液の調製: 魚肉 20g を 50cc の蒸溜水とともに blender にかけ, 8% 三塩化酢酸 30cc を加えて沪過する。抽出液 5cc は魚肉 1g に相当する。

2) イオン交換樹脂による Hm の分離: Fig. 1 に示す column の下端を脱脂綿で栓をし, Amberlite IRC-50 (100 mesh) の 2cc を蒸溜水で流し込み, 均一に沈下させる。気泡を完全に除いて樹脂層の上部を平面にならし, 少量の脱脂綿で蓋をする。予め 1N 塩酸 5cc を通し, 約 5cc の蒸溜水で洗つた後, 2N 酢酸緩衝液 (pH 4.6) 5cc を通して樹脂内を pH 4.6 の平衡状態とし, つぎに 5cc の 0.2N 酢酸緩衝液 (pH 4.6) を通す。

Hm の濃度にしたがつて供試液 10〜50cc をとり, 10% 苛性ソーダで pH 4.6 に合わせた後, column 内に注入し, 毎分 2〜3cc の流速で通す。つぎに樹脂に残つた不純物を 0.2N 酢酸緩衝液 (pH 4.6) の 40cc で完全に駆出する。樹脂に吸着されている Hm は 0.2N 塩酸の 10cc を通して溶出し, 10cc に定容する。

3) 標準曲線: 標準 Hm 溶液を 0.1N 塩酸で稀釈して作つた 0, 1.25, 2.5, 5, 7.5 および 10mcg/cc の Hm 溶液を用いて, 下記の方法で発色し, 標準曲線を画く。

4) 亜硝酸処理: 試料 Hm の溶出液 5cc または標準 Hm 液の 5cc を試験管 (1.5〜2.0×20cm) にとり, 0.5cc の 15% 亜硝酸ソーダおよび 0.5cc の 1N 塩酸を混和し, 0.1cc の 5% 臭化カリを促進剤として加えて, 60°C の湯煎中に 5 分間放置する。

5) Hm の発色: 亜硝酸処理後, thymol blue 液 1 滴を加え, 10% 苛性ソーダでアルカリ性とし, 減圧下でアンモニヤを留去し, 塩酸で pH を 9 (緑色) に合わせ, 炭酸ソーダ緩衝液の 1cc と蒸溜水を加えて約 5cc にし, 氷水中に 3〜5 分間放置する。他方, 0.1% *p*-nitroaniline 15cc を氷冷し, 0.1cc の 15% 亜硝酸ソーダを加えてヂアゾ化した発色試薬 (*p*-nitrobenzene diazonium chloride) をつくり, その 1cc を前記の冷却した試料に加え, 10 分間 5〜10°C の水中に放置する。これに 10cc の酢酸エチルを加えて振盪し, 下層を駒込ピペットで取り除き, つぎに 1% 炭酸ソーダ 5cc を加えて 2 回洗滌を繰返す。

6) 測定: 赤紫色の上層に 2g の脱水芒硝を加え, 測定直前に 2 滴の濃アンモニヤ水を加えて振盪し, 分光光度計を用い, 550 mμ の波長で吸光度を測定する。または光電比色計を用い, 530 mμ あるいは 570 mμ のフィルターをかけて吸光度を測定する。標準曲線より測定値に相当する Hm 濃度を求め, 稀釈倍数を乗じて Hm 含量を算出する。Hm アゾ色素の吸収曲線を Fig. 2 に, 標準曲線の代表例を Fig. 3 に示す。

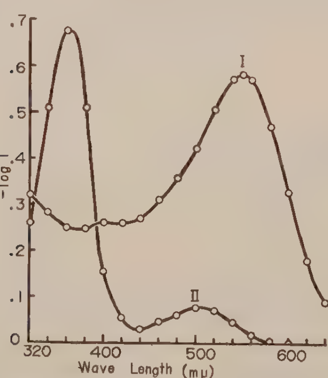


Fig. 2. Absorption spectra of deaminated Hm-azo pigment (I) and of pigment formed on coupling ammonia with *p*-nitrobenzene diazonium chloride (II).

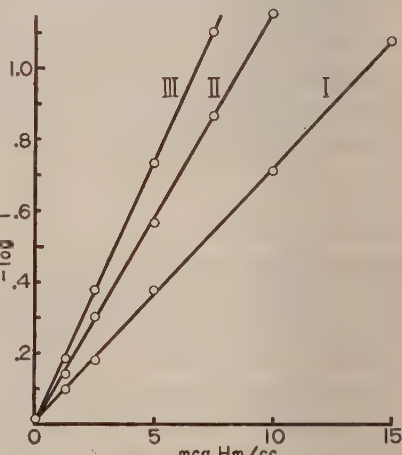


Fig. 3. Standard curves. I: measured by spectrophotometer at 550 mμ employing cuvette of 1 cm width. II and III: measured by electrophotometer with 570 and 530 mμ filter, respectively, 2 cm cuvette being employed.

研究結果および考察

1. Amberlite IRC-50 の pH と Hm の吸着度との関係

前報[2)]において Amberlite IRC-50 に Hm が吸着されることを明らかにしたが，著者等は IRC-50 を用いて Hm の分離を試みた。まず種々の pH をもつ 2N 酢酸緩衝液を加えて樹脂内の pH を変化させた IRC-50 に対する Hm の吸着行動をしらべた。すなわち，200 mcg の Hm を加えた 5cc の魚肉抽出液をそれぞれの緩衝液により pH を調整した IRC-50 の column に通し，吸着した Hm を 0.2N 塩酸で溶出して吸着率を測定した。Table 1 にみられるように，Hm は pH 4.5 で完全に吸着され，0.2N 酢酸緩衝液 (pH 4.5) の 50cc を引続き通しても Hm の流出は全く認められなかつた。他方 pH 4.5 の 0.2N 酢酸緩衝液の 30cc を通すことによつて，Histidin, Tyrosin その他のアミノ酸はすべて完全に溶出されることを沪紙クロマトで確かめた。

Table 1. Adsorption of Hm on Amberlite IRC-50 at varying pH.

	pH of Amberlite IRC-50 adjusted by acetate buffer to pH				
	3.0	3.5	4.5	5.5	7.0
Hm in effluent	84 %	4 %	0 %	2 %	35 %
Hm adsorbed	16	96	100*	98	65

* No Hm was detected in a washing of the column with 50cc of acetate buffer of pH 4.5.

2. Amberlite IRC-50 の Hm 分離能およびアンモニヤによる定量誤差

IRC-50 の 2cc をつめた column がどれほどの抽出液から Hm を分離する能力があるかを検討した結果は Table 2 に示す通りである。最大限 50cc の抽出液までは 2cc の IRC-50 で Hm を完全に捕捉定量できることが分つた。したがつて魚肉中の Hm は 0.05 mg·% までは測定できることになる。鮮度が悪くて Hm を多量に含む抽出液では，交換容量に制限があるために多量の抽出液を通すと回収率が落ちる。また IRC-50 の column に多量の抽出液を繰返し通すと，樹脂内に脂質が沈着するので，イオン交換能と分離能が著るしく低下し，Hm の漏出が起つた。しかし樹脂に沈着した脂質は，再生後アセトンを 20cc 通すと，容易に除くことができた。

抽出液中に Hm が少なくてアンモニヤが多い時には，column 内に蓄積したアンモニヤが 360 mμ に大きな，500 mμ に小さな吸収極大をもつ橙色に発色するので多少誤差が起る。Fig. 2 にその吸収曲線を，Fig. 4 に 550 mμ の吸光度と濃度の関係を示してある。したがつて魚肉中の Hm 含量が 1mg·% 以上でアンモニヤ含量が 20 mg·% 以下であればその誤差は無視できるが，Hm が 1mg·% 以下であるときには無視できなくなるので，IRC-50 より溶出した液を亜硝酸処理した後，苛性ソーダでアルカリ性にして減圧下でアンモニヤを留去し，塩酸で pH を 9 に再調整してヂアゾ化す必要がある。

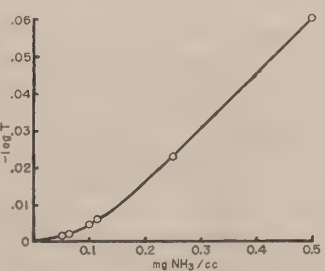


Fig. 4. The change in absorbancy at 550 mμ of ammonia azo pigment with varying amounts of ammonia.

なお，ヂアゾ試薬を加えて発色させる時の温度について検討した結果，ヂアゾ試薬は分解を防ぐために氷冷する必要があるが，発色度は 0～20°C の間で温度による差異がほとんどなかつた。ただし低温では反応速度が遅すぎて長時間を要し，高温ではヂアゾ試薬の分解が加わつて盲検値が高くなるので，10°C 前後の温度が最も適している。

3. 魚肉および三塩化酢酸抽出液に加えた Hm の回収率

新鮮なサバ肉および腐敗したサバ肉の抽出液の種々の容積に 5～5000 mcg の Hm を添加し，2cc の IRC-50 をつめた column に通し，40cc の 0.2N 酢酸ソーダ緩衝液 (pH 4.6) を通して不純物を洗い去つて後，0.2N HCl の 10cc で Hm を溶出した。Table 3 から分るように，Hm の回収率はかなり広い濃度範囲にわたり，しかも鮮度に関係なく 96～106% であつた。

Table 2. Recovery of Hm from varying volumes of extract.

	Volume of extract (cc) passed through the column					
	5	10	25	50	100	200
	mcg	mcg	mcg	mcg	mcg	mcg
Hm originally present	0	5	12	41	4	820
Hm added	200	200	200	200	50	1000
Hm found	200	204	210	210	48	1210
Recovery	100%	99%	99%	95%	89%	66%

Table 3. Recovery of Hm added to TCA-extract of sample flesh.

		Hm in total volume of sample extract.	Hm added (mcg)	Hm found (mcg)	Recovery (%)
fresh	sample 1	4 mcg/100 cc	5.0	9.3	106
		〃	50	52	96
		〃	200	206	101
	sample 2	0.02 mcg/10 cc	5,000	5,000	100
	sample 3	26 mcg/50 cc	5.0	31	100
		〃	50	74	98
		〃	200	230	102
putrid	sample 1	267 mcg/ 5 cc	200	470	102
	sample 2	925 mcg/10 cc	5,000	5,850	99

Table 4. Recovery of Hm from tissues added with ammonia* (40mg·%) and varying amounts of Hm.

Species of fish	Hm added to tissues mg·%	cc. of extract subjected to chromatography	$-\log T$ at 550mμ	Hm found mcg/cc, eluate	Hm found mg % tissue	Recovery %
Scomber japonicus, Mackerel.	0	10	0.025	0.32	0.13	
	0	20	0.040	0.52	0.13	
	0	50	0.122	1.60	0.16	
	1.0	10	0.202	2.65	1.06	93
	1.0	20	0.305	4.00	1.00	87
	1.0	50	0.795	10.40	1.04	88
	10.0	10	0.375§	4.90	9.80	97
	10.0	20	0.625§	8.14	10.17	100
	10.0	50	0.767†	10.06	10.06	99
Parathunnus obesus, Bigeye tuna.	0	50	0.105	1.40	0.14	
	0.2	50	0.235	3.10	0.31	85
	1.0	20	0.376	4.80	1.20	106
	1.0	50	0.840	11.00	1.10	96
	4.0	20	0.250	3.30	4.13	98
	4.0	50	0.612	8.00	4.00	96

§ and †: the eluates were diluted five times and ten times, respectively.

* The eluates, after being treated with nitrous acid, were freed from ammonia by vacuum distillation in alkaline reaction.

つぎに 40mg·% のアンモニヤと種々の濃度の Hm を加えたサバおよびメバチマグロの肉について，Hm の回収率を測定した。この場合にはIRC-50 より溶出した液を亜硝酸処理した後，苛性ソーダでアルカリ性とし減圧蒸溜でアンモニヤを除いてから定量した。Table 4 から明らかなように，アンモニヤによる過大値は認められず，平均 95% の回収率がえられた。

4. 測定波長の選択

亜硝酸処理した Hm の吸収曲線は Fig. 2 に示すように 550mμ に極大があり，一方不純物の発色が 400mμ 以下に極大をもつので，光電比色計でも充分に測定できるに違いない。実際に分光光度計で 550mμ で測定した結果と光電比色計(東京光電)で 530 および 570mμ のフィルターを用いて測定した結果は Table 5 に示すようによく一致した。分光光度計および光電比色計を用いて測定した標準曲線は Fig. 3 に示す通りであるから，570mμ のフィルターを使うと，530mμ のフィルターを使うときより感度は多少落ちるが，不純物による誤差は少ないはずである。Table 5 にみられるように，Hm の低濃度の場合にこの不純物による誤差が認められた。

5. 本法と他の定量法との比較

太田氏の方法，cotton acidsuccinate 法，Amberlite IRA-400 を用いる方法および本法による測定値の比較は Table 6 に示す通りである。太田氏の方法および cotton acidsuccinate 法[3] は Hm を含まぬ新鮮なサバ肉抽出液の場合には本法より高い測定値を示した。また Hm を高濃度に含む抽出液では太田氏法は逆に本法より小さい値を示し，cotton acidsuccinate 法は本法より高い値を示した。この誤差の原因は太田氏法では試薬不足のために過少に，cotton acidsuccinate 法では

Hm 以外で呈色するものが cotton acidsuccinate に吸着されたためであろう。しかし Amberlite IRA-400 により阻害物質を除いてから Hm を定量した値と本法による値とはきわめてよく一致した。したがつて本法はエキス成分の多い赤身の肉の微量 Hm を定量するのに適しているといえる。

6. 魚肉の腐敗過程と Hm 生成との関係

新鮮な市販のサバ肉をミンチにかけて均一に混和し，ポリエチレンの袋に入れて 5～10°C の冷蔵室に放置し，毎日細菌数，揮発性塩基，Hm の測定および官能検査を行なつた結果は Fig. 5 に示す通りである。揮発性塩基は放置中に徐々に増加するので，初期腐敗の時期が明瞭に判別し難かつたが，ほぼ 4 日目頃とみられる。Hm は 4 日目に増加しはじめ，菌数の増加と傾向が近似しており，腐敗の初期が明らかに判別できた。Hm の生成期は官能検査で認められた異常とも一致した。したがつて肉中の Hm は既往の研究[4,5]から明らかなように細菌によつて生成するものとみられる。腐敗前のサバ肉の Hm 含量として 0.2 mg·% の値がえられたが，この場合にはアンモニヤを駆逐しないでヂアゾ化した時の値で過大な値といえる。恐らく Hm は無菌魚肉の常成分ではないであろう。サバやイワシの場合には Hm の含量と官能検査の結果とがよく一致するので[6,7]，エキス成分の多い魚肉の化学的鮮度判定には Hm 含量が適している。また Hm による鮮度判定は食品衛生の立場からも望ましいことである。

Table 5. Comparison of values for Hm in mackerel flesh as determined by spectrophotometer and electrophotometer.

Spectrophotometer (at 550 mμ)	Electrophotometer with 530 mμ filter	Electrophotometer with 570 mμ filter
mg·%	mg·%	mg·%
0.2	0.5	0.2
6.4	7.0	6.5
72	70	74

Table 6. Comparison of values for Hm determined by present method and several relevant methods.

Species of fish	Hm (mg·%) The present method	The method with Amberlite IRA-400[2]	OTA'S method[1]	Cotton acid succinate method[3]
Scomber japonicus, Mackerel	0.5	0.6	45	28
	64	64	136	
	210	213	140	272
Chrysophrys major, "Tai"	0.2		12	
	0.0		7.4	2.8
Thunnus alalunga, Albacore	12	12	32	16
	84		140	

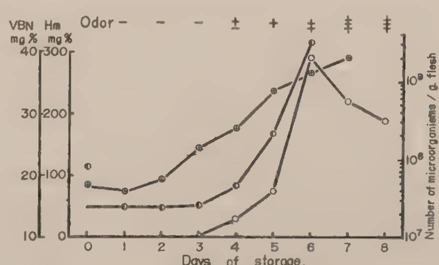


Fig. 5. Formation of Hm during spoilage of mackerel flesh.
Hm: ○—○, Number of microorganisms: ◐—◐, VBN.: ⊕—⊕.

総　　　括

魚肉の三塩化酢酸抽出液を pH 4.6 に中和し，pH 4.6 の Amberlite IRC-50 を用いる Ion exchange chromatography にかけて Hm を分離し，*p*-nitrobenzene diazonium chloride で発色させる新定量法を提出した。結果はつぎのように要約できる。

1. Hm は pH 4.6 で Amberlite IRC-50 に定量的に吸着され，0.2N 塩酸で容易に溶出される。
2. Histidin, Tyrosin その他の阻害物質は 0.2N 酢酸緩衝液 (pH 4.6) で column を洗滌することによ

り除去される。IRC–50 の column は多量の組織抽出液を通すと脂質が沈着し，イオン交換能を低下させるので，アセトンで除く必要がある。

3. 回収率は 5～5,000 mcg の範囲で魚肉の鮮度に関係なく 96～106% であつた。

4. 550 mμ で測定できる Hm アゾ色素の感度は 0.5 mcg Hm/cc であり，本定量法の条件では魚肉中の 0.05 mg·% に相当する。

5. 魚肉の腐敗過程における Hm の生成は細菌数の増加および官能検査の異常とよく一致した。

本研究は日本レダリーの援助により行なつた。ここに謝意を表する。

文　　献

1) 太田冬雄: 本誌, **24**, 41 (1959).
2) 津田　厚・森　健児・富山哲夫: 本誌, **25**, 361 (1959).
3) 門田　元・井上淳太郎: 本誌, **19**, 916 (1953).
4) M. Kimata, M. Tanaka: *Memoirs of Res. Inst. Food Sci. Kyoto Univ.* **7**, 12 (1954).
5) 河端俊治・石坂公成・三浦利之・佐々木忠尚: 本誌, **22**, 41 (1956).
6) 富山哲夫・黒木俊一・野村　稔: 本誌, **21**, 958 (1955).
7) 富山哲夫・黒木俊一・前田伝喜・浜田盛治・本田　彰: 本誌, **22**, 120 (1956).

THE MECHANISM OF THE SLIME FORMATION ON SUGARED KAMABOKO. III. IDENTIFICATION OF DEXTRAN BY MEASURING THE VELOCITY CONSTANT OF ACID HYDROLYSIS AND BY OXIDATION WITH SODIUM META-PERIODATE FOR 'NETO' COMPOUND

Hitoshi Uchiyama and Keishi Amano
(Tokai Regional Fisheries Research Laboratory)
Received June 15, 1959

In the preceding papers,[1][2] a problem of surface spoilage of Kamaboko producing slime or "Neto" was described as to the mother substance and causative bacteria being considered to promote this particular spoilage, in which the writers assumed that the slime or "Neto" would be dextran, a kind of glucose polymer characterized with its 1,6 glucosidic linkage. The facts that brought this conclusion could be as follows; the "Neto" is unexceptionally formed on Kamaboko containing cane sugar as a seasoning stuff, which is never produced on the food added by glucose, fructose, xylose and arabinose instead of sucrose. In addition, neither mixture of glucose and fructose nor the phosphorylated form of these sugars do fulfil requirement of the problem organism for dextran production, even both hexoses ought to be considered as satisfactory energy source. On the other hand, with progress of formation of "Neto" on sugared Kamaboko, sucrose in the Kamaboko is consumed rapidly accompanied with the increase of reducing sugar as degradation product of sucrose by bacteria. From these experimental results, the writers presumed that a polymerative decomposition of sucrose would take place in sugared Kamaboko and this slimy, transparent "Neto" should be a certain carbohydrate polymer like dextran. Besides this, a strain of *Leuconostoc*, a popular dextran forming bacteria has been isolated from spoiled sugared Kamaboko. This "Neto" material, purified by a repeated precipitation with methanol for three times, was as well hydrolized with dextranase prepared from *Penicillium funiculosum*, as done for clinical pure dextran. The end products from the "Neto" decomposed by the dextranase, were identified as isomaltose and isomaltotriose by paper chromatography.

In order to add further proof for our conclusion, in this report, another identification test specific for dextran by using sodium-metaperiodate and measuring the velocity constant of hydrolysis for a standard clinical dextran will be described.

In 1952, Kobayashi[3] has reported that the rate of hydrolysis of polysacchararides like starch and dextran with 10 N H_2SO_4 under various temperatures, in which he mentioned the velocity constant of hydrolysis calculated on the basis of unimolecular reaction, was about 10 times at 40°C and about 6 times at 60°C larger for amylose,

Contribution B No. 318 from the Tokai Regional Fish. Res. Lab.

which involves 1, 4 glucosidic linkage, than dextran. And, in 1953, KOBAYASHI[4] also reported that the ratio of amount between 1,4 and 1,6 glucosidic linkage among different kinds of dextran, by means of measuring the amount of formic acid derived from dextran due to oxidation with sodium meta-periodate which distinguished the 1,6 linkage from the 1,4 linkage.

Meanwhile, McCLESKEY et al[5] (1947) showed that most commonly encountered species which forms dextran from sucrose was *Leuconostoc mesenteroides* including over a hundred strains, and he grouped these organisms into four types; A, B, D and F chiefly by their colony characteristics. In 1956, JEANES[6] examined the ratio of 1,6 and 1,4 linkage in samples of dextran obtained from the culture of these four types of *Leuconostoc mesenteroides* and disclosed there should be a wide variation in the number of α-1,6 glucosidic linkage.

The idea in these findings mentioned above was adopted as a means to scrutinize the nature of ' Neto ' produced by Kamaboko spoilage.

Materials and Methods

' Neto ' sample

' Neto ' sample used was prepared in the same method described in the previous reports.

Amylose and Amylopectin

Amylose and amylopectin used in this experiment were supplied by the courtesy of Dr. J. NIKUNI, Prof. of Osaka University. These staffs were said to be prepared from potato and sweet potato.

Determination of reducing sugar obtained by acid hydrolysis of ' Neto ' sample.

Acid hydrolysis of both ' Neto ' and amylose was carried out at the temperature of 60±0.1°C. kept in a water bath. After ' Neto ' sample and sulphuric acid were heated to this temperature separately, both materials were mixed in an Erlenmeyer flask of 100 ml. with glass plug. The reaction was proceeded in a condition of 0.2 per cent of ' Neto ' sample with 10 N sulphuric acid. At the interval of every 60 minutes, the mixture subjected to hydrolysis was pippeted from the flask and placed in a beaker and then neutralized with 10 per cent sodium hydroxide solution, and reducing sugar thus remained in the sample was determined by HANES method and figured out in terms of glucose.

In another experiment, total amount of reducing sugar in both ' Neto ' and amylose was determined after complete hydrolysis with 1 N H_2SO_4 solution for the account of calculating the rate of hydrolysis. In the case of ' Neto ', the hydrolysis was undertaken by heating in a oil bath kept between 120 and 130°C for 8 hrs. and for amylose, in a boiling water bath for 2 hrs. After both ' Neto ' and amylose was hydrolized completely, the hydrolyzate was neutralized with sodium hydroxide solution and also

reducing sugar derived in such a way was determined by HANES method.

Calculation of the velocity constant of hydrolysis of 'Neto'

The value of velocity constant of acid hydrolysis of 'Neto' and amylose was computed by the following formula,

$$k=\frac{1}{t}\log_{10}\frac{c}{c-x}$$

where c is the amount of total reducing sugar in 'Neto' or amylose, x for the amount of reducing sugar released from polymers at a certain time during hydrolysis under the given condition, t for the time in minutes.

Determination of formic acid produced by oxidation of 'Neto' with sodium meta-periodate

Formic acid produced due to periodate oxidation of the polysaccharide was determined by the procedure described by SMITH et al.[7] 'Neto', amylose, amylopectin and clinical pure dextran are dissolved in 2 per cent solution of sodium chloride separately and each solution was cooled to 5–6°C by standing in a refrigerator. To this solution, sodium meta-periodate was added in an amount of four times more than the amount considered to be equivalent to oxidize whole linkage. Then, the solution was shaked by a reciprocal shaker in a refrigerator kept at 5–6°C for 24 hours. In the end of the period of standing, 10 ml. portion of the solution was pippeted and a 0.1 ml. part of conc. ethylenglycol was added in order to reduce all the remaining meta-periodate. After standing for 30 minutes, the solution was titrated with 0.01 N sodium hydroxide using phenol-red indicator under perfusion of nitrogen gas. The value of formic acid can be then obtained from the consumption of 0.01 N sodium hydroxide solution.

Periodate oxidation of polysaccharide

It has been admitted that one mole of formic acid should be formed from one mole

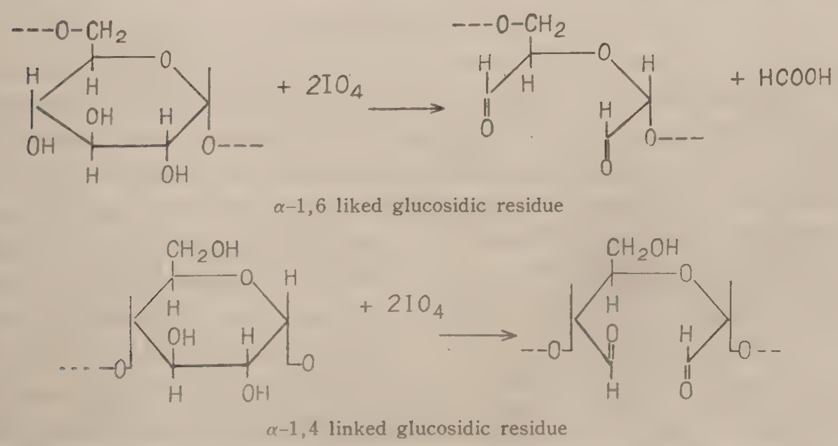


Fig. 1. Proposed reaction of periodate oxidation for dextran and amylose.

of anhydroglucose, which locates in dextran as three adjacent hydroxyl group with 1,6 glucosidic linkage, by oxidation process with periodic acid or periodate, while, in the case of polysaccharide likes amylose, which involves none of these adjacent hydroxyl group because of its 1,4 glucosidic linkage, thus periodate would not give formic acid by oxidation.

Further, for dextran, two moles of periodate are required to release each mole of formic acid (See Fig. 1).

Therefore, a possibility of formic acid liberation from polysaccharide with periodate would give whether or not there could be 1,6 glucosidic linkage in structure of the polymer.

Preparation of sodium periodate.

As any commercial reagent could not be available, sodium periodate used in this experiment was prepared according to LANGLOIS method by using sodium para-iodate as a starting material. The following reaction would proceed by giving sodium iodate together with sodium nitrite and water.

$$Na_3H_2IO_6 + 2HNO_3 \longrightarrow NaIO_4 + 2NaNO_3 + 2H_2O$$

Quantitative analysis of sodium meta-iodate.

To a 10 ml. portion of the mixture, withdrawn from Erlenmeyer flask at the end of oxidation reaction, 5 ml. of saturated sodium bicarbonate solution, 5 ml. of 0.1 N sodium arsenite and 5 ml. of 0.15 N sodium iodide were added in this order, and after well shaken, the mixture was kept for about 30 minutes in room temperature. And then, sodium arsenite remained in the mixture was titrated with 0.02 N iodine solution. The concentration of iodine solution was carefully checked every day with 0.05 N solution of sodium thiosulphate.

Results and discussion

As shwn in Figures 2, 3, 4, it is obvious that the velocity of acid hydrolysis of 'Neto' was lower than that of amylose at 40°C, and clinical dextran was found most resistant to hydrolysis. The trend of susceptibility for hydrolysis among three samples is similar even under increased temperature, though amylose is very labile at 60°C. This implies that the number of 1,6 glucosidic linkage contained in 'Neto' should be less than that of clinical pure dextran and also it coincides with the observation on viscocity of these two kind of dextran reported in the previous paper.

Table 1. The velocity constant of acid hydrolysis of 'Neto' dextran and amylose (60°C±0.1)

Materials	k(min^{-1})
Amylose	0.00756
Dextran	0.00132
'Neto'	0.00267

Table 1, in which the velocity constant of hydrolysis for three samples at 60°C is indicated, gives about 5.7 times

higher rate for amylose than dextran and nearly 2 times high rate for ' Neto ' from the value for clinical pure dextran.

In Figure 5, rate of formic acid formation for each sample with treatment of

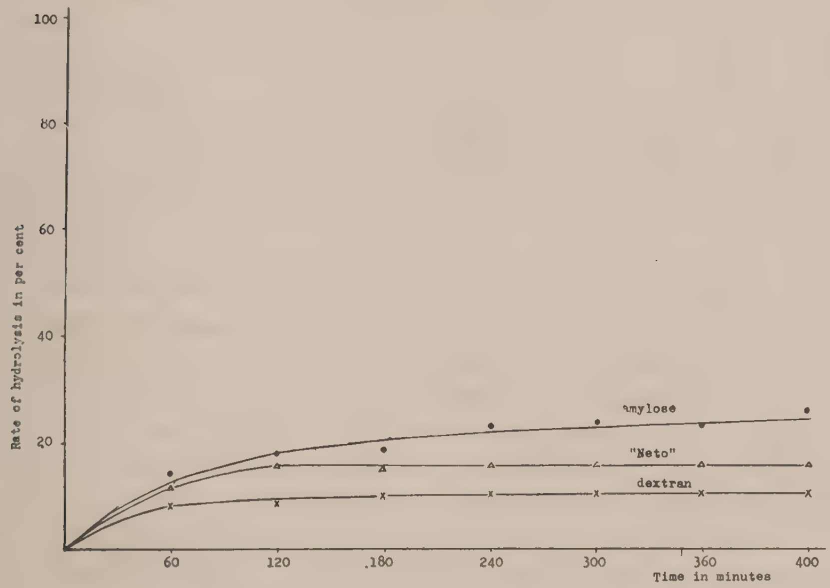


Fig. 2. Rate of acid hydrolysis of amylose, dextran and " Neto " at 40°C±0.1°C.

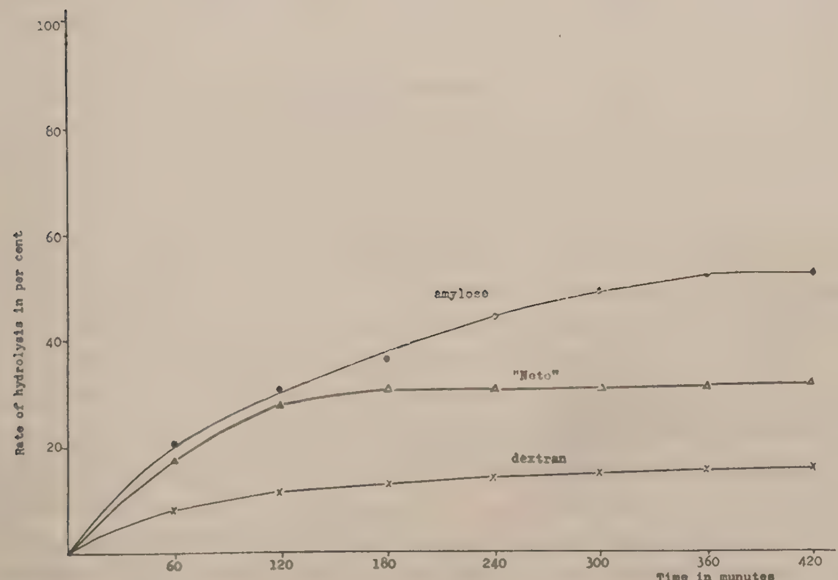


Fig. 3. Rate of acid hydrolysis of amylose, dextran and " Neto " at 50°±0.1°C.

periodate is given. Most abundant production of formic acid can be traced in clinical dextran and the middle is 'Neto', while least amount of formic acid is liberated from amylose.

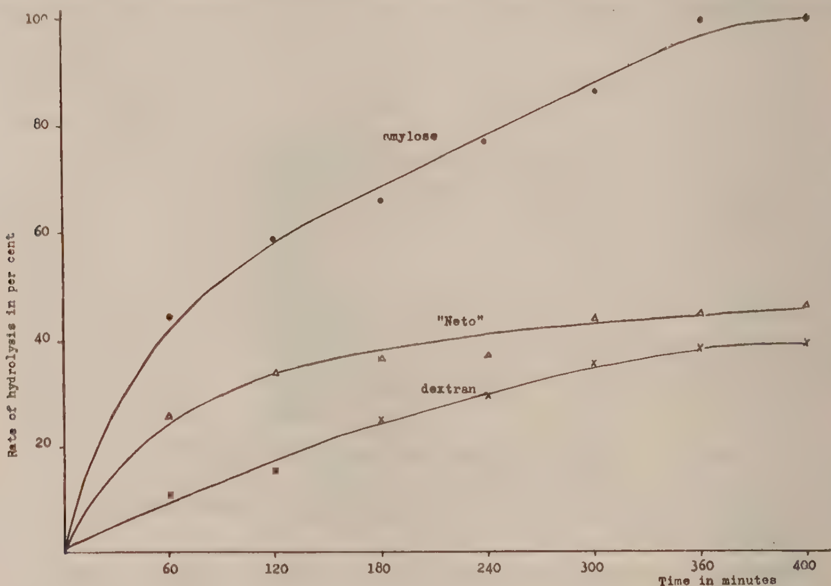


Fig. 4. Rate of acid hydrolysis of amylose, dextran and "Neto" at 60±0.1°C.

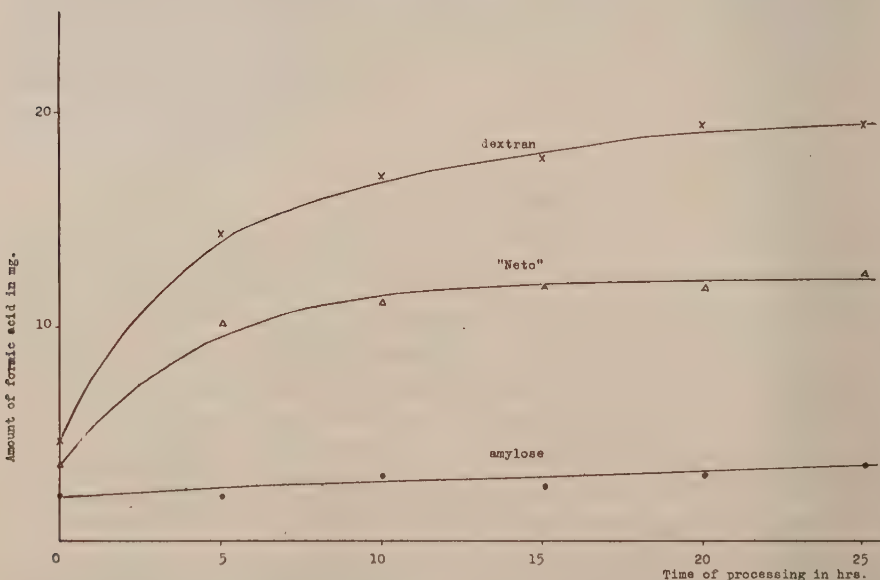


Fig. 5. Formic acid production from amylose, dextran and "Neto" by means of periodate oxidation. (6–10°C)

Table 2. Periodate oxidation of 'Neto', dextran, amylopectin and α-methylglucoside

Materials	Formic acid produced in mole per mole of anhydroglucose	Periodate consumed in mole per mole of anhydroglucose
'Neto'	0.58	1.66
Dextran	0.78	1.88
Amylopectin	0.08	0.66
α-Methyl glucoside	1.00	2.03

As will be seen in Table 2, a control run for α-methylglucoside indicates that one mole of formic acid can be obtained from exactly one mole of anhydroglucose, where 2.03 moles of sodium periodate are required to oxidize one mole of the anhydroglucose. These values well agree with theoretical figures.

Meanwhile, amount of formic acid from clinical dextran is 0.78 moles per one mole anhydroglucose where the consumption of periodate is in a level of 1.88 moles. And, 0.58 mole of formic acid was produced from one mole of anhydroglucose by consuming 1.66 mole of periodate. The value is obviously lower than the case of clinical dextran, which indicates a smaller percentage of 1,6 glucosidic linkage in 'Neto' than in clinical dextran. This evidence presumably implies that the number of 1,3 or 1,4 linkage in 'Neto' should be higher than in dextran, though the major portion of the binding consists of 1,6 linkage.

However, higher amount of formic acid produced from 'Neto' as well as the higher rate in consumption of periodate involved in this sequence than the finding of amylopectin would suggest that 1,6 linkage still remains principal part in the structure of 'Neto' compound.

Acknowledgement

The writers with their heartful thanks to Dr. Tsuneo Kobayashi of Tokyo University for his kind advice throughout the work.

Summary

1. The velocity constant of hydrolysis of 'Neto' showed about 2.8 times as higher than that of amylose at the temperature of 60°C, which suggests a majority of glucosidic linkage in 'Neto' should be composed of 1,6 form.

2. By oxidation test with periodate a comparatively large amount of formic acid was produced from a unit mole of anhydroglucose in 'Neto compound, which could be another proof to indicate the presence of more 1,6 glucosidic linkage, a characteristic of dextran.

3. From above two finding, together with the evidences already mentioned in our other reports the 'Neto' obtained from spoiled sugared Kamaboko would be determined as a dextran.

References

1) H. Uchiyama and K. Amano: Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, **23**, 716–722, (1958).
2) H. Uchiyama and K. Amano: Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, **24**, 840–848 (1959).
3) T. Kobayashi: Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan, **25**, 424–426 (1952).
4) T. Kobayashi: Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan, **27**, 33–37 (1953).
5) C. S. McClesky: Journal of Bacteriology, **54**, 697–708 (1947).
6) A. Jeanes: Journal of Bacteriology, **72**, 167–173 (1956).
7) D. Glick: 'Methods of Biochemical Analysis', (1945), 190–194.

COMPARATIVE STUDIES ON TWO HEMOGLOBINS OF SALMON—II. CRYSTALLISATION AND SOME PHYSICAL PROPERTIES*

Kanehisa HASHIMOTO and Fumio MATSUURA**

(Received June 15, 1959)

In the previous paper[1], some properties of two hemoglobins (Hb's) of chum salmon were reported. The preparations used were, however, amorphous. The present paper is dealing with a method of fractional crystallisation of two Hb's, together with measurement of sedimentation and diffusion constants on the crystalline preparations thus obtained.

Material and Methods

Material: Blood used was of chum salmon, *Oncorhynchus keta*. As for details of sampling and subsequent treatments refer to the previous paper[1].

Crystallisation of Hb's: The following method of crystallisation was found best so far, which is shown schematically in Fig. 1. To begin with, solid $(NH_4)_2SO_4$ was added to CO-saturated hemolysate until 0.35 saturation, adjusting the pH of the solution to about 7, and suctioned after a short-time standing. The pigment in the filtrate was salted out almost completely at 0.6-saturation with $(NH_4)_2SO_4$. The pigment precipitated was collected, dissolved in CO-saturated water and the solution was filtered. To the filtrate solid $(NH_4)_2SO_4$ was added at pH 6.7 to 6.8 until a slight turbidity appeared, and the solution was suctioned immediately. Trapezoid crystals appeared in the filtrate after standing for one or two days in a cold place. Recrystallisation of the crystals was carried out in the same way, when square-shaped crystals were obtained (Fig. 2). The crystals were found to be of component F and to be homogeneous by free boundary electrophoresis or heat coagulation test[2].

Component S could be crystallised from the mother liquor from which the crude crystals of component F were removed, by the following procedure. The liquor was dialysed two overnights against running tap water to remove the remaining component F as much as possible. This is based on the fact that the most part of component F are denatured and precipitated as it is converted from carbonyl form to oxidised (met) form during the dialysis. After the dialysis, the solution was filtered and the filtrate was treated with a trace of $Na_2S_2O_4$, saturated with CO, made slightly turbid by adding solid $(NH_4)_2SO_4$ at pH 6.3 to 6.4, and suctioned immediately. Clusters of needle-

* The outline of this article was read before the Ann. Meeting of the Japan. Soc. of Sci. Fish. held on April 1, 1959. The previous article[1] titled, "Comparative Studies on Two Hemoglobins of Salmon", is designated as the first report of this series hereafter.

** Faculty of Agriculture, The Univ. Tokyo, Tokyo, Japan. (橋本周久, 松浦文雄: 東大農学部)

shaped crystals appeared in the filtrate usually after standing for two or three days in a cold place (Fig. 2). Results of electrophoresis and heat coagulability test on the re-crystallised preparation showed that it was practically of component S.

Component F separated from a hemolysate by starch electrophoresis was also crystallised by the similar procedure, while component S not so far. Crystals of

hemolysate
- saturated with CO
- 0.35–saturated with $(NH_4)_2SO_4$ (pH about 7)
- suctioned

ppt. | filtr.
- 0.6–saturated with $(NH_4)_2SO_4$ (pH about 7)
- suctioned

filtr. | ppt.
- dissolved in water
- made slightly turbid by adding $(NH_4)_2SO_4$ (pH 6.8∼6.9)
- suctioned

ppt. | filtr.
- left standing in a cold place (1∼2 days)
- suctioned

filtr. | crystals of component F
- dialysed against running tap water (2 days)
- filtered

ppt. | filtr.
- treated with $Na_2S_2O_4$ and CO
- made slightly turbid by adding $(NH_4)_2SO_4$ (pH 6.3∼6.4)
- suctioned

ppt. | filtr.
- left standing in a cold place (2∼3 days)
- suctioned

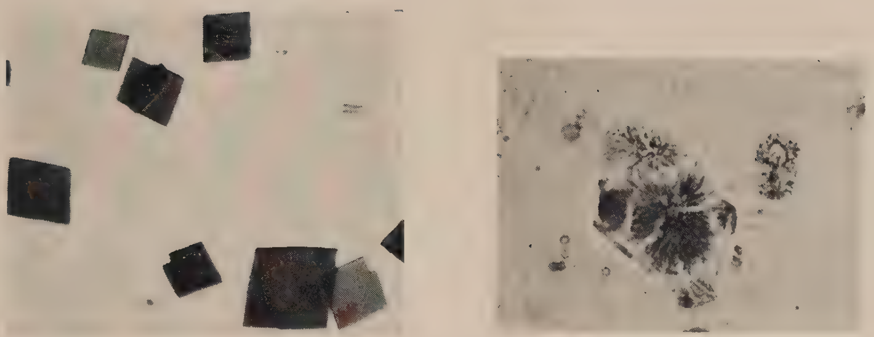
filtr. | crystals of component S

Fig. 1. Schematical procedure for fractional crystallisation of component F and S.

component S were, however, obtained from a hemolysate from which component F was previously removed by heat coagulation and subsequent centrifugation.

Measurement of sedimentation constant: Sedimentation constant was measured on the 0.6% solution of carbonyl derivative of the both preparations and also on the hemolysate with a Spinco Model E ultracentrifuge. Phosphate buffer (0.1 M, pH 7.0) and veronal buffer (0.1 μ, pH 8.6) were used. The patterns are shown in Fig. 3.

Measurement of diffusion constant: Diffusion constant was measured at 4°C. on the 0.2 % carbonyl Hb solution of each preparation in 0.1 M phosphate buffer of pH



(× 100) (× 550)

Fig. 2. Crystals of component F (left) and S (right).

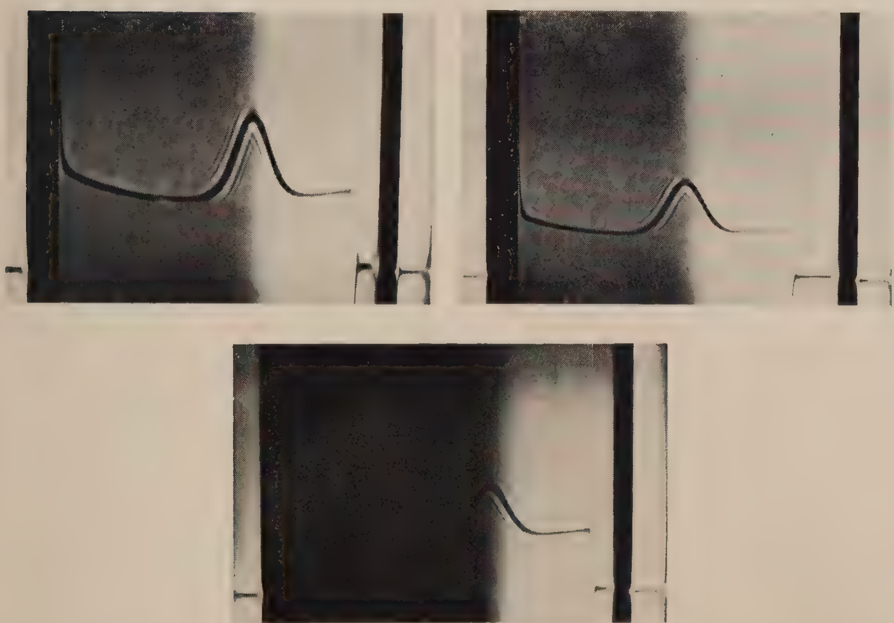


Fig. 3. Sedimentation patterns of component F (left in above), S (right in above), and hemolysate (below), taken about 100 minutes after attaining maximal rotor speed (59,780 r.p.m.).

Table 1. Physical properties for component F and S

	Component F	Component S
Sedimentation const., $s_{20,\,w}(S)$	4.16	3.64
Diffusion const., $D_{20,\,w}$ (cm.^{2}/sec.)	6.6×10^{-7}	4.9×10^{-7}
Melecular weight, $M_{s,\,D}$	61,000	72,000
Frictional ratio, f/f_0	1.23	1.56

7.0 with a Spinco Model H electrophoresis apparatus.

The sedimentation and diffusion constants for the both components, corrected to water basis at 20°C. are tabulated in Table 1, together with their molecular weights and frictional ratios calculated using these constants.

Results and Discussion

The crystallisation of component F was comparatively easy, and even once-crystallised preparation was contaminated with only 2 to 3% component S. Crystal forms, trapezoid and square, seem to be related to the purity. Component S was, however, very difficult to crystallise and the condition of crystallisation was so delicate that a slight divergence in pH of the solution resulted in precipitation of amorphous matter. Frequently spherical globules were observed, which were then gradually transformed into clusters of needle-shaped crystals.

The sedimentation pattern of each preparation showed only one peak. The hemolysate consisted of about an equal amount of component F and S, showed also a single peak. The sedimentation constant of component F or the hemolysate ($s_{20,w}=4.11\,S$) agrees with those reported for fish or the other vertebrate Hb's[3]. For *Salmo salar* Hb, $s_{20,w}=4.1\,S$ was reported[3]. The sedimentation constant of component S is, however, fairly small in comparison with component F and seems to be one of the smallest among the vertebrate Hb's reported hitherto[3]. A sedimentation experiment on hemolysate was also performed in the veronal buffer, with which a nice separation into double peaks was pointed out in the case of turtle[4], but no separation occurred. In this connection, the sedimentation constant measured here was slightly lower than in the phosphate buffer ($s_{20,w}=3.88\,S$).

Diffusion constant was calculated to be 6.6×10^{-7} and 4.9×10^{-7} cm.^{2}/sec. for component F and S, respectively. These values were determined with about 0.2% Hb solutions, and slightly different values might be obtained with more concentrated solutions, in view of the concentration effect of this protein[5]. Experiments with more concentrated Hb solutions were however not performed due to the difficulty of taking clear patterns. The diffusion constant of component F is very close to those reported for the other vertebrate Hb's[3], whereas that of component S is far smaller and seems rather rare among the analogues. This relation is reminiscent of that pointed out above on the sedimentation constants. The diffusion patterns were practically symmetrical which may be another evidence of the homogeneity of these preparations.

From the sedimentation and diffusion constants, and the assumed partial specific volume of 0.750, the molecular weights were calculated. Although these values differ more or less from each other, it is doubtful whether the difference is very significant or not, considering that the fairly large variation in the molecular weight obtained by this method is known (63,000∼76,000)[6]. The frictional ratio for component F, 1.23,

is comparable to those reported for vertebrate[6], whereas the ratio for component S, 1.56, is, fairly high. The axial ratio of component S, 10.2, is in a striking contrast to 4.6 for component F (as prolate), or 12.8 to 4.8 (as oblate).

Thus the two components of salmon Hb were found to be different markedly in the physical properties studied here as in the other properties[1], component F being rather closer to usual vertebrate Hb than component S. This is further supported by another fact that the Bohr effect on the oxygen dissociation curve is obviously observed only for component F, which will be detailed in the next report.

Summary

1. The two components, F and S, of salmon Hb were successfully crystallised by the method of fractional crystallisation from hemolysate. These preparations were practically homogeneous in the electrophoretical, heat coagulation, ultracentrifugal, and diffusion analyses.

2. Component F and S were found to be different from each other in sedimentation and diffusion constants, and frictional ratio, but seemed not in molecular weight.

The authors are grateful to Dr. J. Koyama of the Institute of Infectious Diseases, this University, for the measurement of the sedimentation constants, to Prof. B. Maruo of the Institute of Applied Microbiology, this University, for giving an opportunity of the measurement of the diffusion constants, and to Miss Y. Wadatsu for measuring those constants.

The expenses of this investigation were defrayed in part by a research fund granted from the Ministry of Education.

References

1) Hashimoto, K., and Matsuura, F.: *This journal* **24**, 724 (1959).
2) Matsuura, F., Hashimoto, K., and Haruta, N.: *This journal* **24**, 730 (1959).
3) Svedberg, T., and Pedersen, K. O.: "The Ultracentrifuge", Oxford Univ. Press, Oxford, p. 357 (1940).
4) Ramirez, J. R., and Dessauer, H. C.: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* **96**, 690 (1957).
5) Lamm, O., and Polson, A.: *Biochem. J.* **30**, 528 (1936).
6) Neurath, H., and Bailey, K.: "The Proteins", Academic Press, New York, Vol. 1, Pt. B, p. 634 (1953).

幽門垂蛋白分解酵素に関する研究—III.

鰹幽門垂蛋白分解酵素の結晶分離

斗ヶ沢宣久・勝又悌三・石川雅司

(1959 年 6 月 16 日受理)

STUDIES ON THE PROTEINASE OF PYLORIC CAECA—III. PREPARATION OF CRYSTALLINE PROTEINASE OF BONITO PYLORIC CAECA

Yoshihisa TOGASAWA, Teizo KATSUMATA and Masashi ISHIKAWA*

The purification of the proteinase of bonito pyloric caeca was carried out as follows; distilled water extraction of ground pyloric caeca, adsorption of enzyme with Amberlite XE-64, elution of proteinase after washing the resin for removal of amylase, salting-out with ammonium sulphate, dialysis, decolorization with Duolite A-2, precipitation and crystallization with acetone (Fig. 1).

Crystals of the proteinase were obtained in the form of needles (Fig. 2).

The crystalline proteinase was obtained with an yield of 2% in activity and a specific activity increased 24 times as compared with the original solution (Table 3).

前報[1,2]において鮪幽門垂 proteinase を結晶に分離し報告したが，この度更に duolite A-2 を併用して鰹幽門垂の proteinase を結晶状に分離したので，その結果を報告する。

実験方法

1. 酵素液調製法: 新鮮な鰹 *Katsuwonus pelamis* LINNÉ 磨砕幽門垂の 3 倍量水抽出液をガーゼおよび脱脂綿で沪過して得た不透明酵素液を原液（A液）として供試した。

2. 酵素力測定法，酵素単位表示法，酵素純度表示法: 前報[1,2,3,4]に準じて行なつた。

3. イオン交換樹脂の調製: amberlite XE-64 (200～400 メッシュ) は前報[2]記載のごとく再生したものを用い，duolite A-2 は乳鉢で磨砕し，50～200 メッシュの部分を篩分け，これを蒸溜水に懸濁して上澄液が透明になるまで洗滌を繰返す。風乾後 duolite A-2 70 g に 2N NaOH 400 m*l* を加えて 3 時間攪拌を続けた後，上澄液を捨て，充分水洗後風乾して実験に供した。

結果並びに考察

1. duolite A-2 による脱色試験

酵素原液並びに各精製過程における酵素液は相当に着色（黄褐色）しており，この脱色のため duolite A-2 を用い予備試験を行なつた。

まず duolite A-2 を M/5 phosphate buffer (pH 7.5) で予め緩衡化し，この風乾樹脂の各量をそれぞれ 5 m*l* のメスフラスコにとり，さらに M/5 phosphate buffer (pH 7.5) を加えて 5 m*l* とし，一昼夜室温に放置して緩衡化する。buffer を除去し，A 液を硅藻土沪過してえた B 液 (NaOH で予め pH 7.5 に調製) をそれぞれ 2 m*l* ずつ加え上記 buffer で 5 m*l* に稀釈して攪拌し，遠心分離 (10000 r.p.m., 5 分) し

* 岩手大学農学部 (Fac. Agr., Iwate Univ.).

Table 1. Decolorization of enzyme solution with Duolite A-2

	Duolite A-2 (%)	0	1	2	4	6	8	10
	color / Hrs. of hydrolysis	+++	+++	++	+	±	±	±
Proteinase	1	0.08	0.08	0.08	0.07	0.09	0.09	0.09
	2	0.11	0.11	0.10	0.10	0.12	0.11	0.11
	3	0.15	0.15	0.14	0.16	0.15	0.16	0.15
	6	0.21	0.22	0.20	0.21	0.21	0.22	0.20
	20	0.39	0.40	0.39	0.38	0.40	0.41	0.41
Amylase	1	0.03	0.02	0.02	0.03	0.02	0.02	0.03
	3	0.08	0.06	0.08	0.07	0.06	0.07	0.06
	6	0.10	0.09	0.09	0.09	0.08	0.10	0.10
	20	0.18	0.19	0.18	0.20	0.18	0.21	0.20

てえた上澄液について肉眼的色調観察と酵素（proteinase と amylase）吸着の有無を検討した。

結果は Table 1 のごとくであり，duolite A-2 1～10% 添加の場合 proteinase, amylase ともにほとんど吸着されず，しかも約6% 添加でほとんど脱色しえた。

2. proteinase の結晶分離

前報[2]の方法に duolite A-2 による脱色操作を加え Fig. 1 に示す方法で鰹幽門垂 proteinase の結晶化を行なつた。Fig. 2 はえられた鰹幽門垂proteinase の結晶である。

3. 精製過程における酵素力，収量並びに比活性度

精製過程における proteinase, amylaseの 酵素力は Table 2 のごとくであり，proteinase の各過程における収量並びに比活性度を示すと Table 3 のごとくである。なお，表中収量，比活性度は前報[4]記載

Fig. 1. Crystallization procedure of bonito pyloric caeca proteinase.

Fresh bonito pyloric caeca, 830 g.
added with 2500 m*l*. of distilled water and ground with Waring blender

Filtrate (A), 2670 m*l*. — Precipitate
filtered through a layer of celite on a Buchner funnel

Filtrate (B), 2250 m*l*. — Precipitate
adjusted to pH 5.0 and then added with Amberlite XE-64, 135 g., buffered with M/20 acetate buffer at pH 5.0, after stirring for 10 min., centrifuged

Enzyme-adsorped resin — Supernatant
washed four times in 1360 m*l*. of M/100 acetate buffer at pH 5.0 for removal of amylase

Proteinase-adsorped resin — Supernatant
(1) eluted with 400 m*l*. of M/5 phosphate buffer at pH 7.5, adjusted to pH 6.2 by 10 N NaOH, then centrifuged
(2) eluted again with 400m*l*. of the same buffer, centrifuged

Elute 1 (C), 410 m*l*. — Resin
Elute 2 (D), 390 m*l*.
added with $(NH_4)_2SO_4$ to 0.8 satn. (pH 7.0～7.2) to Elute 1 + Elute 2, held at 0° C. for one day

Precipitate — Filtrate
washed with 0.8 saturated $(NH_4)_2SO_4$ soln., then dissolved in 60 m*l*. of distilled water, and then filtered through celite

Filtrate — Precipitate
dialyzed against M/1000 KH_2PO_4 soln. (pH 7.0～7.2) at 2～3°C. for 3 days

Filtrate (E), 110 m*l*. — Precipitate
adjusted to pH 7.5 and then added with Duolite A-2, 8.8 g., buffered with M/5 phosphate buffer at pH 7.5 for decolorization, after stirring for 10 min., filtered through celite

Filtrate — Resin
added with acetone to 80% at −5～−10°C., held at 0°C. for one day

Precipitate — Supernatant
washed with cold 80% acetone, and dissolved in 4 m*l*. of distilled water, then added with acetone so as to get slight turbidity and held at 0°C. two weeks

Crystal (F), 13.5 mg.

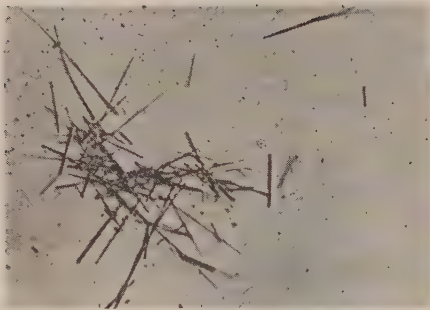


Fig. 2. Crystals of the proteinase obtained from bonito pyloric caeca (×600).

にしたがい算出したものである。

結果，結晶 proteinase の収量は酵素原液（A液）に対して 2%，比活性度は 24 倍であつた。

要　　約

前報[2)]の方法にさらに duolite A-2 による脱色を併用し，鰹幽門垂から結晶 proteinase を調製した。

すなわち，鰹磨砕幽門垂の水抽出液を硅藻土沪過し，amberlite XE-64 を用いて酵素を吸着させ，amylase 除去，proteinase 溶出後，硫安塩析，透析，duolite A-2 脱色，アセトン沈澱を経て結晶 proteinase をえた。えられた proteinase の収量は酵素原液に対して 2%，比活性度は 24 倍であつた。

Table 2. Activities of fractions of proteinase and amylase

	Hrs. of hydrolysis	A	B	C	D	E	F
Proteinase	1	0.10	0.11	0.20	0.15	0.19	0.07
	2	0.22	0.24	0.30	0.21	0.26	0.10
	3	0.32	0.34	0.34	0.27	0.33	0.12
	6	0.42	0.42	0.43	0.34	0.43	0.15
	20	0.50	0.51	0.51	0.48	0.49	0.22
Amylase	1	0.14	0.12	0	0	0	0
	3	0.28	0.23	0	0	0	0
	6	0.35	0.31	0	0	0	0
	20	0.72	0.69	0	0	0	0

Figures in Table 1 and 2 denote $ml.$ of N/100 alc. KOH (proteinase), and N/20 $Na_2S_2O_3$ (amylase).

Table 3. Yields and specific activities of fractions of proteinase

	A	B	C	D	E	F
Volume (ml.)	2670	2250	410	390	110	75
Total protein N (mg.)	2423	510.3	136.4	76.7	149.7	1.98
Total proteinase unit	356000	330000	109333	78000	139333	7000
Yield (%)	100	92.9	30.7	21.9	39.1	2
Specific activity	147	647	802	1017	931	3535
Ratio of specific activity to A	1	4.4	5.5	6.9	6.3	24

文　　献

1) 斗ケ沢宣久・勝又悌三：本誌，**25**，122 (1959).
2) 斗ケ沢宣久・勝又悌三：本誌，**25**，402 (1959).
3) 斗ケ沢宣久・勝又悌三：本誌，**23**，157 (1957).
4) 斗ケ沢宣久・勝又悌三：本誌，**23**，163 (1957).

水産食品の腐敗中毒に関する研究—VIII.

Proteus 菌群における *l*-(−)-Histidine 脱炭酸酵素の分布と *P. morganii* 洗滌菌体懸濁液の脱炭酸能と pH の関係

河 端 俊 治・鈴 木 茂

(1959 年 6 月 16 日受理)

STUDIES ON THE FOOD POISONING ASSOCIATED WITH PUTREFACTION OF MARINE PRODUCTS—VIII.

Distribution of *l*–(−)–Histidine Decarboxylase among *Proteus* Organisms and the Specificity of Decarboxylating Activity with Washed Cell Suspension of *Proteus morganii* with Special Reference to the pH.

Toshiharu KAWABATA and Shigeru SUZUKI*

A strain of *Proteus morganii*, presumably the causative organism of an outbreak of allergy-like food poisoning from eating raw flesh of big-eyed tuna (*Parathunnus mebachii*) was isolated by the authors in 1955. The organism was characterized by the production of a large amount of histamine and other unknown vagus-stimulant named "saurine".

The present paper deals with the distribution of *l*–histidine decarboxylase among *Proteus* group as tested with washed cell suspension and the response of the decarboxylating activity upon varying pHs. In addition, the stability of the enzyme in washed cell suspension against temperature and the ability to form ammonia from *l*–histidine or mackerel infusion medium were studied. Results obtained may be summarized as follows:

1. The presence of *l*–histidine decarboxylase in washed cell suspensions of 13 strains of *Proteus morganii* was confirmed, however, the rate of production of histamine was markedly different depending upon strains. Whereas, a very slight activity of *l*–histidine decarboxylase was detected in strains of *P. mirabilis*, *P. rettgeri* or *P. vulgaris* tested.

2. The *l*–histidine decarboxylation by washed cell suspension of any of *Protea* tested, reacted at a range of pH value between 5 and 8 and the activity was the highest at pH 6.0 to 6.5.

3. It is noteworthy that a marked difference was observed in the specificity between *l*–histidine decarboxylase of *P. morganii* and that of *Cl. perfringens*, viz., the former decarboxylates *l*–histidine at such a wide reaction range as pH 4 to 8, in which the pH of optimum activity was at 5.8, while the activity of the latter limited in an acid side below pH 5.5 and the optimum pH was 3.2.

4. The *l*–histidine decarboxylase in washed cell suspension of *P. morganii* was found to be fairy stable at a temperature between 4° to 24°C for 96 hours. While, at 37°C, about 95 per cent of enzyme was inactivated in 24 hours and no detectable activity remained after 96 hours. On the other hand, keeping the suspension in a freezer at −20°C destructed about 70 per cent of activity in 24 hours, however no further inactivation was observed for 96 hours.

5. No appreciable amount of ammonia was formed when certain strains of *P. morganii* were grown in the mackerel infusion media at 25°C for 48 hours, or when a washed cell suspension was mixed with *l*–histidine in buffer solutions at pH 4.5 to 9.0 and incubated at 37°C

* 国立予防衛生研究所 (Dept. Food Control, National Inst. Health, Kamiosaki-chojamaru, Shinagawa-ku, Tokyo, Japan.

for 3 hours.

6. The facts described above may suggest that the *l*-histidine decarboxylase of *P. morganii* is quite different in nature from that of *Cl. perfringens*.

ま え が き

ある腐敗細菌が *l*-histidine を脱炭酸して histamine を作ることは古く ACKERMANN[1] によつて指摘されて以来，細菌の *l*-histidine 脱炭酸能については HANKE & KOESSLER[2], KENDALL & SCHMITT[3], KENDALK & GEBAUR[4], HIRAI[5], EGGERTH[6], GALE[7], ALIN[8] 等，日本でも木俣[9]，相磯[10]らによつて研究が行なわれて来た。対象となつた細菌も *Escherichia*, *Shigella*, *Achromobacter*, *Proteus*. *Pseudomonas*, *Streptococcus* 等にわたつている。筆者ら[11]も数年前からサンマ桜干しをはじめ，各種水産食品に多発するアレルギー様食中毒の研究を行ない．検体から多量の histamine をはじめ，未知の saurine と仮称する histamine 様物質を見出し，これを原因物質と考えた。一方 1955 年埼玉県下で発生したメバチマグロ刺身によるアレルギー様食中毒検体から *Proteus morganii* を分離し，毒物の生産能を確認することができた[12]。相磯ら[10]も本菌を中毒原因菌であると考え，漸く本菌のアレルギー様食中毒原因性について各方面の注目を集めるに至つた。従来本菌はいわゆる菌体外毒素を作らず，非病原菌とみなされていたが．小児の下痢症のような特殊の場合にのみ何等かの役割を演ずるものと推定されて来た。

細菌のアミノ酸脱炭酸酵素については GALE[7,13]によつて広範な研究が行なわれて来たが．彼は *Proteus* 菌群の *l*-histidine 脱炭酸能については否定的であつたが．木俣[9]，相磯[10]，河端ら[12]の研究により *Proteus* 殊に *P. morganii* の *l*-histidine 脱炭酸能は確定的と考えられるに至つた。筆者らは *Proteus morganii* の *l*-histidine 脱炭酸酵素についての一連の研究をはじめるに当り．今回は筆者らの分離した *Proteus* 菌の他，入手した多くの *P. morganii* における *l*-histidine 脱炭酸酵素の分布と，洗滌菌体懸濁液の脱炭酸能と pH の関係，アミノ酸の脱アミノ作用．菌体中での脱炭酸酵素の安定性についてえた知見を報告する。

実　　験

実験 1. *Proteus* 菌における *l*-histidine 脱炭酸酵素の分布

1. 供試菌株

P. morganii‥‥#71, 73 (筆者ら[12]がメバチマグロ検体から分離した株)。起(おこし) 23, 26, 33_1, 33_2, 39, 42, 50; TU-2, 6, 11, 57 (以上 11 株は愛知県起町で発生した原因不明中毒の患者より分離した菌株。分離者岐阜県立医大微生物学教室鈴木博士より分与されたもの)‥‥以上 13 株を用いた。

P. mirabilis. #106 (北里研究所保管株)

P. rettgeri, #313 (同上)

P. vulgaris, NNR-6 (東大応微研保管株)

上記 *Proteus* 16 株はいずれも成書の記載にしたがつて生物学的諸性状を再確認してから使用した。

2. 実験方法

(1) 基礎培地: 表皮を除いて細挫したマサバに倍量の蒸溜水を加え 100°C で 90 分間煮沸後沪過し．pH を 7.0 に修正 1% の割でブドウ糖を加え，100 cc ずつ三角フラスコに分注．15 ポンド 15 分間高圧滅菌した。

(2) 培養および脱炭酸能の測定法: 予め 3 日間ブイヨン培地に継代移植した供試菌の 1 白金耳を基礎培地に接種し，25°C で 7 日間培養した。その間 1 日．3 日．5 日目にそれぞれ 25 cc ずつ無菌的に培養液をとり，100°C で 5 分間加熱後，0°C, 7350 G の冷凍遠心器で 5 分間遠心し，えた上清について分析を行なつた。脱炭酸能は生成した histamine の定量によつたが，その確認には一次元ペーパークロマトグラフィー (*n*-Butanol-acetic acid-water; 4: 1: 2) を展開し，ヂアゾ反応並びにスポットの Rf 値で行なつた。定量は Mc Intire-門田法[14]にて行ない．同時に pH 値の変化を Beckman pH 計で調べた。

Table 1. Distribution of l-(−)-Histidine decarboxylase among *Proteus* group.
Each organism was inoculated in 1% glucose-mackerel infusion medium and incubated at 25°C for 7 days.

Bacterial strain	Incubation period (days) 1		3		5		7	
	pH	histamine mg·%	pH	histamine mg·%	pH	histamine mg·%	pH	histamine mg·%
Proteus morganii								
Okoshi-33₁	6.1	820	5.8	860	5.4	925	5.2	920
TU-2	6.4	570	5.9	750	5.3	875	5.2	875
# 71	6.2	750	5.7	820	5.6	830	5.6	830
# 73	6.3	770	5.7	780	5.5	775	5.1	800
Okoshi-50	6.4	490	6.1	680	5.5	690	5.2	715
〃 -33₂	6.2	630	6.0	660	5.4	675	5.4	680
〃 -39	6.6	530	6.0	625	5.3	645	5.0	655
TU-57	5.9	513	5.8	575	5.5	590	5.4	610
〃 - 6	6.0	475	5.8	500	5.5	525	5.4	525
Okoshi-26	6.4	375	6.0	425	5.8	465	5.4	485
〃 -23	6.6	355	6.0	405	5.6	445	5.3	450
〃 -42	6.3	330	5.8	375	5.6	420	5.4	435
TU-11	6.4	150	6.3	175	5.8	175	5.7	170
P. mirabilis #106	6.6	12	6.4	14	6.3	14	5.9	14
P. vulgaris NNR-6	6.4	7.5	6.0	8.5	6.0	8.0	5.5	7.5
P. rettgeri #313	6.0	2.5	5.7	3.0	5.5	7.0	5.4	6.5

3. 実験結果

供試 16 株の *Proteus* 菌についてえた結果は Table 1 および Fig. 1 に示した。すなわち 13 株の *P. morganii* にはすべて顕著な histamine 形成能が認められた。Fig. 1 に示したように histamine 形成は第 1 日目でほぼ最高値に達し，それ以降は僅かな上昇するに過ぎない。histamine は 1 週間後もほぼ同じレベルにあつて減少することは認められなかつた。しかし菌株により脱炭酸能に強弱があり，起 33_1, TU-2, #71, #72 は 800～900 mg·% で最も強力株．起 50, 33_2, 39, TU-57 は 600～700 mg·%，TU-6，起 26, 23, 42 は 430～525 mg·%，TU-11 は 170 mg·% と大体 4 段階に分けられた。これに対し供試 3 株の *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *P. rettgeri* の histamine 生成能は一応認められたが，その程度は *P. morganii* に較べ，きわめて微弱であつた。

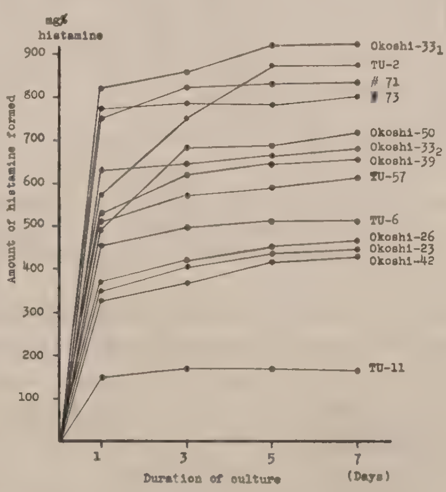


Fig. 1. Variation in the Rate of Formation of Histamine by Various Strain of *Proteus morganii*.

実験 2. *Proteus* 菌の l-histidine 脱炭酸酵素の至適 pH

1. 供試菌

P. morganii (*Achromobacter histamineum*, II*)

P. morganii, #71; #73 } 埼玉県下のメバチ中毒検体より分離された菌株。
P. vulgaris, #22; #77 }

2. 実験方法

1） 洗滌菌体懸濁液の作成： 1% ブドウ糖加サバ浸出培地（実験 1 に記載）に 3 日間継代移植した供

* 京都大学木俣教授より分与されたもので，はじめは *Achrom, histaminium* II と呼ばれていたもの。

試菌をさらに 50cc の同培地に 25°C, 24時間培養後遠心し，3回生理食塩水にて洗滌，遠心を繰返し，最後に 20cc の生理食塩水に懸濁した。

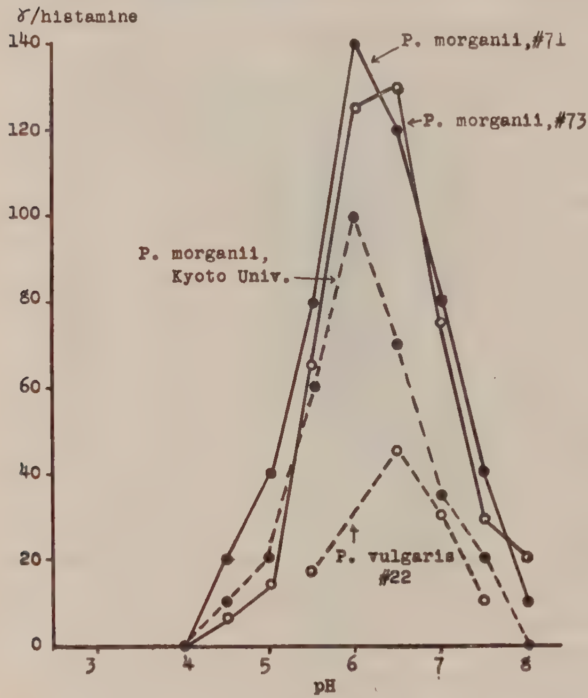


Fig. 2. pHs of Optimum Activity of *l*-(−)-Histidine Decarboxylase in Washed Cell Suspension of *Proteus morganii* and *P. vulgaris*.

（2） 脱炭酸能の測定： 供試菌の洗滌菌体懸濁液 1.0cc, *l*-histidine 1.0cc (1.5mg/cc) と M/20 Mc Ilvaine 緩衝液 (pH 3.0〜8.0 まで 0.5 間隔) 2cc を小試験管中にとり，30°C の恒温水槽で3時間反応させた後，100°C で5分間加熱して反応を停止させ，生成した histamine を Mc Intire-門田法[14] で定量した。

3. 実験結果

えられた結果は反応液 1cc 中の histamine の γ 数で示し，それをとりまとめたものが Fig. 2 である。この表から *Proteus* 菌（菌体懸濁液）の *l*-histidine 脱炭酸酵素の至適 pH はつぎの Table 2 のようになつた。

Table 2. pH of optimum activity of *l*-histidine decarboxylase in *Proteus* group.

Species and strain	pH of optimum activity
Proteus morganii, #71	6.0
#73	6.5
Kyoto Univ.	6.0
Proteus vulgaris, #22	6.5

実験 3. *P. morganii* と *Cl. perfringens* (*Cl. welchii*) の脱炭酸至適 pH の比較

実験2で示したように *Proteus* 菌の脱炭酸能は中性に近い微酸性で旺盛に行なわれることが判つた。一方 GALE[13] は *Cl. perfringens* (*Cl. welchii*) の洗滌菌体での脱炭酸至適 pH は 2.5〜3.0 と著るしい酸性側にあると報告しているので，ここに *P. morganii* と比較実験を行なつた。

1. 供試菌株

P. morganii, #71（実験1に記載）

Cl. perfringens PB 6-K (type A)（予研血清部保管）

2. 実験方法

（1） 菌体懸濁液の作成： 供試培地の組成はつぎのごとくである。

カツオエキス（極東エルリッヒ肉エキス）‥10g	ブドウ糖‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥10g
ペプトン（ポリペプトン）‥‥‥‥‥‥‥‥10g	水 ‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥ 1000cc
食　塩‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥3.0g	pH 7.0 として使用。

上記組成の培地 100cc ずつを高圧滅菌し，供試菌を接種した。*P. morganii* は 30°C, 48 時間, *Cl. perfringens* は 37°C, 48 時間培養し，菌体を冷凍遠心器 (0°C, 7350G, 10 分間) にて集菌した。菌体はさらに生理食塩水で3回洗滌を繰返し，最後に生理食塩水に懸濁して使用した。なお，後述するように酵素力価を菌体蛋白 1mg 当りに換算したので，供試菌液の蛋白濃度を Lowry の改良[15] Folin-phenol 試薬法

に比色定量した（結果は albumin 相当量にて示した)。

（2） *l*-histidine 脱炭酸酵素力価の測定法: GALE は脱炭酸能の力価測定に Warburg 検圧計を使用した。WEALE[16] や ALIN[8] は histidine の脱炭酸生成物である histamine をモルモット摘出腸管を使用する Magnus 法が測定した。この生物学的定量法は感度が鋭敏で，かつ操作が短時間で済むので筆者らも一連の腐敗中毒研究に同法を用いて来たので，実験3の脱炭酸能の測定は Magnus 法によつた。従来の Magnus 法では栄養槽に酸素を通じているが，AOAC の改定法[17] では圧搾空気を使用することになつている。その理由は米国の実験室内では圧搾空気の配管がしてあつて，酸素ボンベより遙かに便利なためであろう。筆者も酸素ボンベの代りに熱帯魚飼育用に販売されている小型で安価なエアポンプを使用したところ，酸素の場合と同感度があり，圧力調節も容易で，かつ経済的であることが判つたので，この改良法を使用することにした。定量方法の原理は被検液による腸管収縮程度を標準 histamine のそれと比較しながら行なうもので，従来と同一である（実験誤差は 5% 以内)。

（3） *l*-histidine 脱炭酸酵素力価の表示法: GALE は Warburg 検圧計を用い，脱炭酸酵素力価を菌体（酵素）窒素 1mg 当り，37°C で1時間に生成する CO_2 の μl 量で示したが，筆者らは Magnus 法によつたので，菌体蛋白* 1mg 当り，37°C で1時間に生成する histamine 量 (γ) で力価を示した。

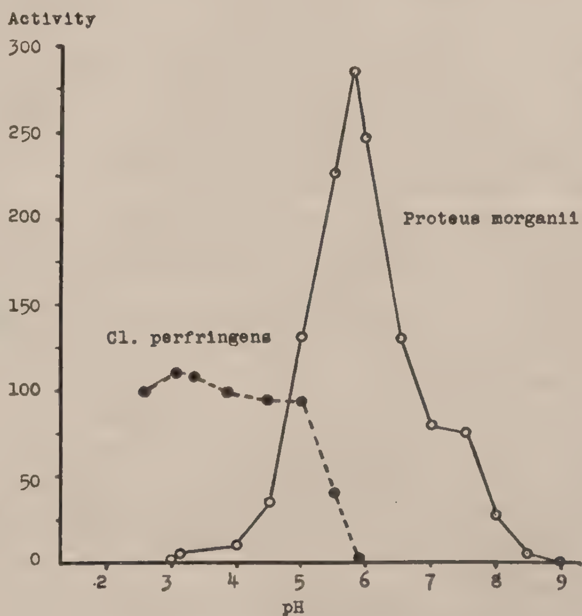
（4） 脱炭酸能の至適 pH 測定法: *P. morganii*, #71 および *Cl. perfringens*, PB 6-K の洗滌菌体懸濁液の脱炭酸能の至適 pH はつぎの方法で測定した。

菌体懸濁液	1.0cc
M/20 *l*-histidine	1.0cc
M/20 McIlvaine 緩衝液 (pH 2.0 より 8.0 まで)	3.0cc

上記を試験管に入れ 37°C で1時間反応させた後，100°C で5分間加熱，酵素反応を停止させ，生成した histamine を生物学的方法で定量した。

3. 実験結果

えられた結果は Fig. 3 に示してある。すなわち *P. morganii* の脱炭酸能は pH 4.0～8.0 という広範囲で行なわれ，特に 5～7.5 で活潑である。至適 pH は 5.8 であつた。これに対し *Cl. perfringens* は pH 5.5 以下の酸性に限られ，至適 pH は 3.2 附近にあつた。*Cl. perfringens* についての結果は GALE の報告[13] とよく一致している。



Activities expressed as γ histamine/mg. bacterial protein/hr. at 37°C.

Fig. 3. pHs of Optimum Activity of *l*-(−)-Histidine Decarboxylase with Washed Cell Suspensions of *Proteus morganii*, #71 and *Cl. perfringens*, PB 6-K.

実験 4. *P. morganii* 菌体中の *l*-histidine 脱炭酸酵素の安定性

P. morganii 洗滌菌体懸濁液中の *l*-histidine 脱炭酸酵素の安定性を調べるため種々な温度で放置した際の酵素力価の変化を調べた。

---

* Lowry の改良 Folin-phenol 試薬法で albumin 相当量で示した。

1. 実験方法

実験3と同様にしてえた *P. morganii*, ♯71 の洗滌菌体懸濁液（生理食塩水）を試験管中で 37°, 24°, 4°, −20°C で 24 時間および 96 時間放置後，つぎのように脱炭酸酵素力価を測定した。

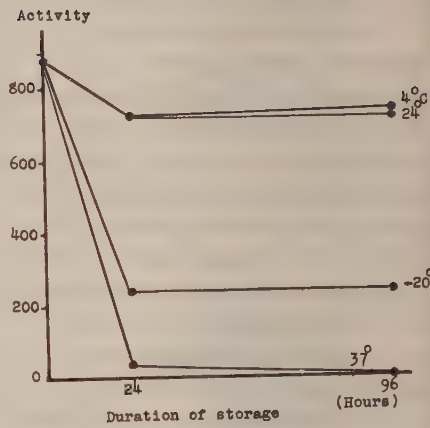
すなわち，

一定条件下で放置後の菌体懸濁液	1.0cc
M/300 *l*–histidine	1.0cc
M/5 燐酸緩衝液 (pH 5.8)	3.0cc

を混合し，37°C で1時間反応させ，生成した histamine を実験3に準じて測定した。

2. 実験結果

えられた結果は Fig. 4 に示してある。すなわち，4～24°C では 96 時間後もほとんど力価に変化はない。37°C では 24 時間後に 95% は不活性化され，96 時間では完全に不活性化された。−20°C の冷凍機中に放置すると 24 時間後に 73% の力価の減少が認められたが，それ以降はほとんど変化がない。したがって一体懸濁液の保存には 4°C の冷蔵庫が好都合であろう。



Activities expressed as γ histamine/mg. bacterial protein/hr. at 37°C.

Fig. 4. Temperature Sensitivity of *l*–(−)–Histidine Decarboxylase in Washed Cell Suspension of *Proteus morganii*, ♯71.

実験 5. *P. morganii* のアミノ酸脱アミノ作用

P. morganii 中 histamine 形成能の強力な菌株についてサバエキス中（培養法）中における NH_3–N の形成並びに洗滌菌体懸濁液について *l*–histidine 脱アミノ作用を pH 4.5～9.0 の範囲で調べた。

1. 供試菌株

培養法には *P. morganii*, 起 33_1, 89, TU–2, ♯71, ♯73 の5株，洗滌菌体懸濁液の実験には ♯71, ♯73 の2株を使用した。

2. 実験方法

培養法には供試菌を予め pH 5.0 および 7.0 に反応を修正し 50cc ずつ分注したサバエキス培地に 25°C で 48 時間培養後，pH, Mc Intire–門田法による histamine 並びに Conway 微量拡散法と Nessler 比色併用法[18] で NH_3–N の測定を行なつた。

♯71, 73 株の洗滌菌体は実験3と同様に作成，菌液 1cc, M/20 *l*–histidine 1cc と，pH 4.5～9.0 にわたる M/20 Mc Ilvaine 緩衝液 2cc とを試験管中に入れ，37°C で3時間反応させ生成した NH_3–N を前記方法により定量した。

Table 3. Formation of ammonium–N and histamine by *Proteus morganii* in growing culture.

(Incubated at 25°C for 48 hours in the mackerel infusion medium)

Strain	Initial pH of medium pH 5.0			Initial pH of medium pH 7.0		
	Final pH	Histamine mg·%	NH_3–N mg·%	Final pH	Histamine mg·%	NH_3–N mg·%
P. morganii						
Okoshi–33_1	6.04	178	4.3	7.03	120	0
TU–2	6.31	150	0	7.02	101	0
♯71	6.03	155	1.1	7.01	97	1.8
♯73	6.01	148	2.9	7.06	99	0
Okoshi–39	6.07	101	1.1	7.44	71	0

Table 4. Formation of ammonium–N from *l*–histidine with washed cell suspension of *Proteus morganii*.

(Incubated at 37°C for 3 hours)

	Reaction pH (M/20 Mc Ilvaine's buffer)									
	4.5	5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0
P. morganii										
♯ 71	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
♯ 73	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

3. 実験結果

培養法によるサバエキス培地の pH の変化，histamine 量，NH_3–N 量は Table 3 にとりまとめてある。すなわち初期 pH 5.0 および 7.0 いずれにおいても多量の histamine の形成が認められたが，NH_3–N の増加はほとんど認められなかつた。

♯71, 73 の菌体量懸濁菌の *l*–histidine 脱アミノ作用は pH 4.5～8.0 においては全く認められなかつた (Table 4 参照)。

考　　察

GALE[13] は彼の調べた 20 株の *P. vulgaris* および *P. morganii* の大部分が glutamic acid と ornithine 脱炭酸酵素を有していたと報告していて，*Proteus* 菌の *l*–histidine 脱炭酸酵素の存在については否定的である。MøLLER[19] は腸内細菌の分類の一手段としてアミノ酸脱炭酸酵素*の有無を目安とすることを提唱している。

一方，日本の研究者中相磯ら[10]，河端ら[12]，木俣ら[9]，田中[20] は *P. morganii* に *l*–histidine 脱炭酸能が存在することを確認している。したがつて *Proteus* 菌における本酵素の分布を調べることは，公衆衛生上はもとより細菌学的見地からも重要な問題である。相磯らによれば供試した 35 株の *P. morganii* のすべてから *l*–histidine 脱炭酸能が認められたという。筆者らの今回調べた 13 株にもすべて脱炭酸能が検出された。しかし菌株によりその能力に強弱があつた。*P. vulgaris* の *l*–histidine 脱炭酸能については筆者ら[12] はすでに報告してあるが，今回調べた *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *P. rettgeri* にもきわめて微弱な脱炭酸能が認められた。

細菌によるアミノ酸の分解と pH の関係については，一般に酸性側では脱炭酸，中性よりアルカリ側では脱アミノが行なわれ，脱炭酸と脱アミノが同時に起る pH はないものと考えられている[13]。*l*–histidine の脱炭酸について，GALE[13] は *Cl. perfringens* (*Cl. welchii*) では酸性側で行なわれることをみ，EGGERTH[6] は *E. coli* についても同様な事実を見出している。

アレルギー様食中毒原因としての *P. morganii* の意義を考えてみると，まず本菌の *l*–histidine 脱炭酸は pH 5 以上の中性に近いところで旺盛に行なわれ，その至適 pH は 6 附近である。また本菌は pH が 7.5～8 というアルカリ側でも脱炭酸する。この点 *Cl. perfringens* とはかなり趣を異にする。pH 6 附近は魚肉殊に赤身のサバ，サンマの腐敗初期までの pH である。一方，本菌は pH 4.5～9.0 の範囲で *l*–histidine やサバエキスからアンモニアの形成することが認められなかつた。この事実は本菌のアミノ酸殊に *l*–histidine 分解能の特殊性ともいうべきであつて，また本菌には蛋白分解能のない事実[12] と併せ，もしこの菌が何等かの条件下で異常増殖をするなら外観上の変化やアンモニアの増加を伴なわないで histamine 等の毒物の異常蓄積が起る可能性がある。1955 年のメバチマグロ刺身による中毒例[12] ではこれが事実で立証されている。

* その中で *P. morganii* についてはグルタミン酸 (+)，オルニシン (+)，リジン (−)，アルギニンは菌株により (+) または (−) としてある。

総　　括

1. *Proteus morganii* 13株，*P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *P. rettgeri* 各1株ずつについて *l*–histidine 脱炭酸能を調べた。供試 *P. morganii* にはいずれも脱炭酸能が認められたが，菌株により強弱の程度に相違があつた。他の3株の *Proteus* 菌にもきわめて微弱な脱炭酸能が認められた。

2. *Proteus* 菌の *l*–histidine 脱炭酸は pH 5～8 という広範囲で行なわれ，至適 pH は 6～6.5 であつた。

3. *P. morganii* ♯71, *Cl. perfringens* PB 6–K (type A) の *l*–histidine 脱炭酸能と pH との関係を比較してみると，前者は pH 4～8.0 という広範囲にわたつて脱炭酸し，その至適 pH は 5.8 であつたのに対し，後者は pH 5.5 以下の酸性側に限られ，至適 pH は 3.2 であつた。

4. *P. morganii* の菌体懸濁液中の *l*–histidine 脱炭酸酵素は 4～24°C の間で安定で，その中で 4°C が最も安定であつた。37°C で 24 は時間後に 95% が不活性化され，96 時間では全く脱炭酸能は消滅する。−20°C では 24 時間後に 75% 位不活性化されるが，それ以降 96 時間までには変化が認められなかつた。

5. 供試 *P. morganii* 5 株はいずれもサバエキス (pH を 5.0 または 7.0 に調整) 中で 25°C, 48 時間の培養を行なつた際アンモニアの形成をみなかつた。また2株 (♯71 および ♯73) の菌体懸濁液について *l*–histidine の脱アミノ作用を調べたが，pH 4.5～9.0 の間では陰性であつた。

本研究に種々御教示，御鞭撻をえた東大森高次郎先生，予研遠山祐三先生に厚く感謝の意を表わすとともに，*Proteus morganii* を供与された岐阜県出医大鈴木祥一郎博士，*Cl. perfringens* を供与された予研血清部山田隆子技官に深謝する。なお本研究の一部は厚生科学研究費によつた。

文　　献

1) D. Ackermann: Z. physiol. Chem., **65**, 504 (1910).
2) M. T. Hanke & K. K. Koessler: J. Biol. Chem., **50**, 131 (1922).
3) A. J. Kendall & F. O. Schmitt: J. Inf. Dis., **39**, 250 (1926).
4) A. J. Kendall & E. Gebaur: J. Inf. Dis., **47**, 1930 (1930).
5) K. Hirai: Biochem. Z., **1**, 267 (1933).
6) A. H. Eggerth: J. Bact., **37**, 205 (1939).
7) E. F. Gale: Biochem. J., **34**, 392 (1940); **35**, 66 (1941); **36**, 64 (1942).
8) K. Alin: Acta allergol., III, 136 (1950).
9) 木俣正夫・河合　章: 京大食研報, **5**, 21 (19ç1); **12**, 29 (1953).
10) 相磯和嘉・豊浦秀世・藤田久稔: 日細菌, **10**, 1615 (1955); **11**, 517 (1956).
11) 河端俊治・石坂公成・三浦利之: 本誌, **21**, 335 (1955); **21**, 341 (1955); **21**, 347 (1955); 21, 1167 (1955).
12) 河端俊治・石坂公成・三浦利之・佐々木忠尚: 本誌, **22**, 41 (1956).
13) E. F. Gale: Advances in Enzym., VI, 1 (1946), Interscience Pub. Inc., New York.
14) 門田　元・井上淳太郎: 本誌, **19**, 916 (1953).
15) O. H. Lowry: J. Biol. Chem., **193**, 265 (1951).
16) E. Werle: Biochem. Z., **306**, 264 (1940); **309**, 61 (1941).
17) (Change in A. O. A. C. method at 69th Meeting, Oct., 1955), J. A. O. A. C.,, **39**, 91 (1956).
18) 河端俊治: 鮮度保持研究班連絡情報, No. 8 (1955) (水産庁).
19) V. Møller: Acta Path. Microbiol. Scand., **34**, 102 (1954).
20) 田中定平: 日細菌, **13**, 1000 (1958).

水産食品の腐敗中毒に関する研究—IX.

Proteus morganii の *l*-(−)-Histidine 脱炭酸酵素形成に関与する因子

河端俊治・鈴木　茂

(1959 年 6 月 16 日受理)

STUDIES ON THE FOOD POISONING ASSOCIATED WITH PUTREFACTION OF MARINE PRODUCTS—IX.

FACTORS AFFECTING THE FORMATION OF *L*(−)-HISTIDINE DECARBOXYLASE BY *PROTEUS MORGANII*.

Toshiharu KAWABATA and Shigeru SUZUKI*

Factors affecting the formation of *l*-histidine decarboxalase by *Proteus morganii*, ♯71 were investigated. The enzyme formation was markedly influenced by such factors as the amount of *l*-histidine in media, pH, the amount of fermentable carbohydrate, growth temperature, and incubation period.

The enzyme was found to be an adaptive one. For the full development of the enzyme in bacterial cells, 2×10^{-3} M or more of *l*-histidine was essential.

Production of the decarboxylase was closely related to pH. The maximum production of the enzyme occurred at an initial pH of 5.1, the lowest value for supporting growth of *Proteus morganii*. The organisms grown at a pH between 5.5 to 7.3 possessed about 50 per cent and those between 7.6 to 8.7 about 10 per cent of the maximum activity.

The presence of such fermentable carbohydrate as glucose in a medium enhanced not only the yield of bacterial cells but also the activity of the enzyme on protein basis. The highest activity was recorded in the organisms grown in a mackerel infusion medium containing 0.5 to 2.0 per cent of glucose. The addition of 3 per cent or more of glucose rather inhibited the enzyme formation, although it brought about a satisfactorily low pH by fermentation during bacterial growth.

The enzyme activity was the highest at about the time when cell division ceased (at about 16th hour); while slight activity was shown in the organisms harvested from cultures in the phase of degradation (48th or 96th hour).

ま え が き

前報[1]において *Proteus* 菌における *l*-histidine 脱炭酸酵素の分布を調べたところ，*P. morganii* には強力な酵素作用が認められ，他の *Proteus* の脱炭酸能は微弱であつた。さらに従来から詳細研究されている *Cl. perfringens welchii*[2,3] と *P. morganii* の *l*-histidine 脱炭酸能の比較を行なつたところ，洗滌菌体の至適脱炭酸 pH は前者は 3.2，後者は 5.8 であつた。そして脱炭酸領域も両菌では著しく違つていた。また *P. morganii* には histidine の脱アミノ能はなく，サバエキス中で培養してもアンモニア形成を行なわなかつた等，本菌の histidine の分解は *Cl. perfringens* とは可成り様子が異ることが判つた。筆者らは水産食品によるアレルギー様食中毒の研究の一環として，原因物質の異常蓄積の機構を解明するた

* 国立予防衛生研究所 (Dept. Food Control, National Insti. Health, Kamiosaki-chojamaru, Shinagawa-ku, Tokyo, Japan.)

り，今回は *P. morganii* の *l*-histidine 脱炭酸酵素形成に関与する因子中，基質 (*l*-histidine) に対する適応性，基質濃度の影響，また前培養の条件中，培地の pH，炭水化物(ブドウ糖)，培養温度，時間について菌体中に形成される酵素力価で比較を行なつた。

実　　　験

実験 1.　基質に対する適応性および濃度の影響

E. coli. や，*Cl. perfringens* の *l*-histidine 脱炭酸酵素は厳密な適応酵素であるといわれる[2),3)]。一方，魚種によつて histidine の含量は著しく異つているので，ここで *P. morganii* の *l*-histidine 脱炭酸酵素形成に基質の影響，外に適応性および濃度の影響を調べた。方法の概要は供試菌を *l*-histidine を含まない合成培地に継代移植してきた洗滌菌体と，種々濃度に histidine を加えた合成培地に発育した菌の懸濁液について，*l*-histidine に対する適応性および添加量の関係を調べた。

1. 供 試 菌 株

P. morganii, ♯71

2. 実 験 方 法

（1）基礎合成培地：塚本[4)] の培地の一部（ブドウ糖濃度等）を変更した次の組成の培地を用いた。

$Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$	5.5 g	Glucose	20.0 g
KH_2PO_4	.3 g	*l*-cystine	0.48 g
NaCl	2.5 g	Ca-pantothenate	10.0 γ
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.1 g	Niacin	20 γ
$(NH_4)_2SO_4$	1.0 g	Distilled water	1,000 cc

（2）histidine 加基礎培地：(1) に記載した基礎培地に，10^{-1}M から 5×10^{-6}M まで 10 段階の濃度の *l*-histidine-HCl (味の素製，特級) を加えた。滅菌は (1), (2) ともに 100°C, 15 分間，3 日間間けつ滅菌法によつた。

（3）培養および洗滌菌体懸濁液の調製：供試菌を 10 cc ずつ分注した基礎培地に接種し，30°C で 24 時間ずつ代継代培養し，6 代目に各 50 cc の基礎培地および histidine 加基礎培地に移植，30°C で 24 時間培養後，前報[1)] に記載した方法で洗滌菌体懸濁液を作成した。

（4）酵素力価の測定および表示法：菌体懸濁液は Coleman 光電比色計 (630 mμ) で濃度を一定にし，その一部について LOWRY 法[5)]で蛋白量を測定した (albumin 相当量として結果を示した)。脱炭酸能は次の方法で測定した。

菌体懸濁液	1 cc (0.173 mg の albumin に相当する。)
M/300 *l*-histidine (味の素製)	1 cc
M/20　燐酸緩衝液 (pH 5.8)	3 cc

上記を試験管中に入れ，37°C で 1 時間反応させた後，100°C で 5 分間加熱して反応を停止させた。ついで前報[1)]と同様モルモット摘出腸管を用いる Maguns 法で生成した histamine を定量した。脱炭酸能力価は前報と同様，菌体蛋白 1 mg 当り，37°C で 1 時間に形成される histamine 量 (γ) で表わした。なお，予備実験として，菌体による *l*-histidine の反応生成物が histamine であることの確認はつぎのようにして行つた。すなわち，基礎培地および 0.5% histidine 加培地でえた菌体 (0.344 mg 蛋白/cc) に M/20 *l*-histidine を pH 5.8 で，37°C で 1 時間反応させた後，遠心し，その上清について Watman No. 1 沪紙による一次元上昇ペーパークロマとグラフィー (*n*-ブタノール・酢酸・水，4: 1: 2) を展開，ニンヒドリンおよびボーリ反応陽性スポットと，同一に展開した標準 histamine (Merck 製), *l*-histidine (味の素製，特級) のスポットの Rf を比較した。その結果，基礎培地でえられた菌体の反応液から histidine のみが，0.5% histidine 加基礎培地でえた菌体については histamine と残留した histidine が検出された。また，ニンヒドリン陽性スポット水抽出液について行なつた腸管収縮能検査では histamine 以外の陽性物質は検

出されなかつた。

3. 実験結果

えられた結果は Table 1 に示した。すなわち，*l*-histidine を含まない培地で発育した菌体には *l* histidine 脱炭酸能は全く認められなかつた。これに反し，10^{-3}M 以上の histidine を含む培地では酵素形成が行なわれた。2×10^{-3}～10^{-1}M 添加では同一レベルの力価を有していたが，10^{-3}M では不十分で 2×10^{-3}M の 1/100 という低い値る示した。これら事実から本菌の *l*-histidine 脱炭酸酵素は厳密な適応酵素であることが判つた。

Table 1. Variation in Activity of *l*-(−)-Histidine Decarboxylase with Substrate Concentration.

Molar concentration of substrate	Enzyme activity*
0	0
2×10^{-6}	0
10^{-5}	0
2×10^{-5}	0
10^{-4}	0
2×10^{-4}	1
10^{-3}	5
2×10^{-3}	500
10^{-2}	500
2×10^{-2}	500
10^{-1}	500

* Activities expressed as, γ histamine/mg. bacterial protein/hr. at 37°C.

実験 2. 培地の pH の影響

1. 供試菌株

P. morganii, ＃71

2. 実験方法

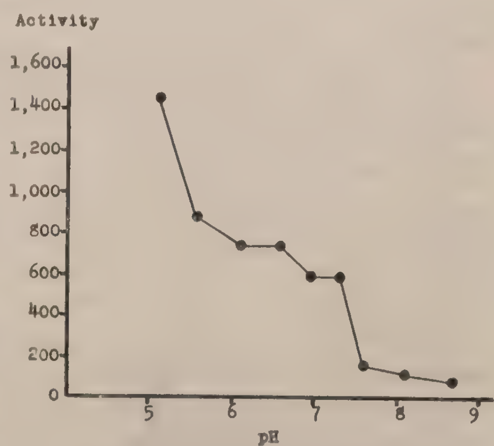
（1） 基礎培地： 前報に記載した方法で調製したサバエキス培地を用いた。各 80cc ずつの培地を 5% HCl または NaOH で pH を 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0 (原サバエキス), 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5, 9.0 に修正し，水を加えて 100cc とした。ついで 15 ポンドで 15 分間高圧滅菌したが，滅菌後 pH が変動したので，滅菌後の pH を培地の pH 値とした。

（2） 培養および洗滌菌体懸濁液の調製： 予めサバエキス培地で継代培養した供試菌を pH を修正した培地 (100cc) に 1 白金耳ずつ移植し，30°C で 24 時間培養した。菌体懸濁液の調製法は前報と同様である。ついで菌体懸濁液の濃度は Coleman 比色計で同一とした（菌体蛋白として 0.344mg albumin 相当量/cc)。

（3） 酸素力価の測定および表示法： 実験 1 と同様にして行なつた。

3. 実験結果

えられた結果は Fig. 1 に示した。ただし pH 4.0～4.5 の培地では 1 週間後も菌の発育が認められなかつたので，力価の測定は除外した。その結果 pH 5 で増殖した菌体が最も強力な力価を有していた。pH 5.5～7 では pH 5 の約 1/2，なお注目されたのは pH 7.6～8.7 というアルカリ側で発育した菌体にも pH 5 の約 1/10 の力価が認められたことである。



Activities expressed as, γ histamine/mg. bacterial protein/hr. at 37°C.

Fig. 1. Relation between *l*-(−)-Histidine Decarboxylase Activity and pH of the Growth Medium.

実験 3. 炭水化物の影響

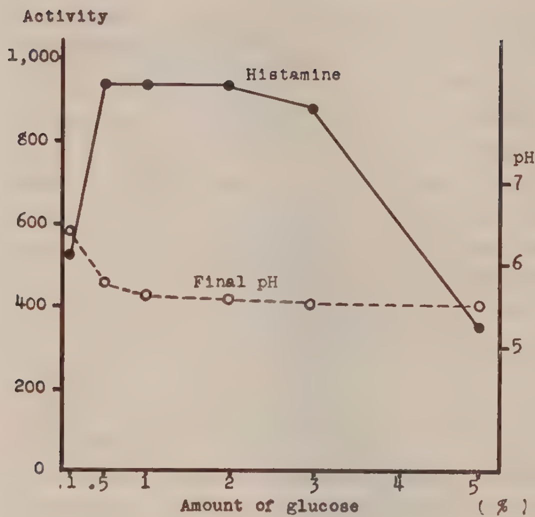
サンマ桜干し等の魚肉製品では屡々醱酵性の糖を使用するので，ここでは *P. morganii* の菌体酵素形成に関する糖濃度の影響を調べた。本菌はブドウ糖を利用しガスおよび酸を作るので，炭水化物としてブドウ糖を用いた。

1. 供試菌

P. morganii, ＃71

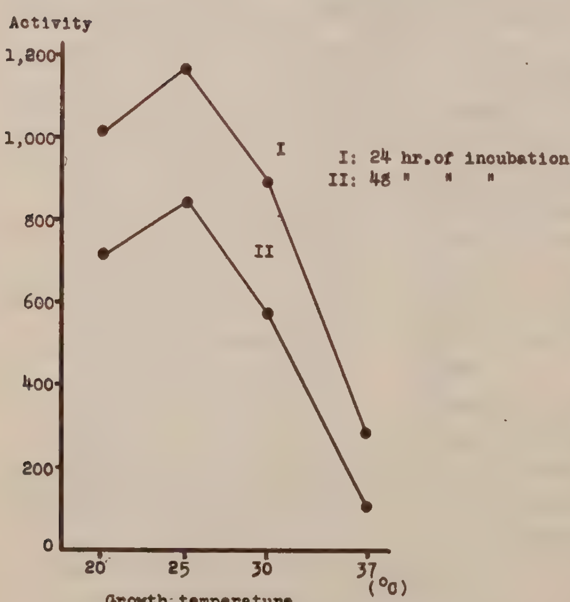
2. 実験方法

（1） 使用培地： 予め pH を 7.0 に修正した培地を 100cc ずつ分注し，これに 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 および 5.0g ずつのブドウ糖（局方試薬用）を加え，15 ポンド 15 分間高圧滅菌をした。なお，同時に



Activities expressed as, γ histamine/mg. bacterial protein/hr. at 37°C.

Fig. 2. Effect of the Presence of Glucose in Growth Medium on the *l*-(−)-Histidine Decarboxylase Activity.



Activities expressed as, γ histamine/mg. bacterial protein/hr. at 37°C.

Fig. 3. Effect of Growth Temperature on the Formation of *l*-(−)-Histidine Decarboxylase of *Proteus morganii*, ♯71.

pH 5.2 に修正した無糖サバエキス培地を対照として用いた。

（2） 培養および脱炭酸酵素力価の測定法：供試菌を各培地に接種し，37°C で 24 時間培養した。それ以降の集菌，洗滌菌体懸濁液の調製および酵素力価の測定方法は今までの実験と同じである。使用菌液濃度は 0.172 mg albumin 相当量/cc であつた。

3. 実験結果

えられた結果は Fig. 2 に示してある。すなわち 0.5〜5% のブドウ糖添加により培地の pH は培養後 5.78〜5.52 と著しく低下したが，2〜5% ではほとんど同じであつた。0.1% 添加では pH 6.35 であつた。どの培養でえた菌体にも脱炭酸能が認められ，力価は 0.5〜2% 添加が最高値を示した。0.1% 添加では 0.5〜2% 添加の 56%，3% 以上では力価の低下が起つた。殊に 5% 添加では 0.5% 添加の 16% の力価しか有していなかつた，一方 pH 5.2（無糖）培地では 0.5〜2% ブドウ糖添加と同じ力価を示した。

実験 4. 培養温度の影響

GALE[2] によると *E. coli* では 20〜26°C で最も酵素形成が盛んに行われ，30°C 以上ではかえつて阻害されるという。しかし EPPS[3] は *Cl. perfringens* の菌体外酵素をとり出すための前培養は 37°C で行なうことを推賞している。*P. morganii* の発育は 37°C が最良であつて[6]，筆者らは今までの実験に 37°C で発育した菌体を供試したので，ここで改めて培養温度の影響を調べた。

1. 供試菌株

P. morganii, ♯71

2. 実験方法

（1） 基礎培地：サバエキス培地（pH 6.01, pH 無修正）。

（2） 培養条件：予めサバエキス培地で継代培養した供試菌を，各 100 cc ずつ分注した基礎培地に 1 白金耳ずつ移植し，4°, 20°, 25°, 30°, 37°C で 24 時間および 48 時間培養した。（なお 4°C では 7 日

間培養したが発育が認められなかつたので除外した)。

（3） 菌体懸濁液の調整および酵素力価の測定法： 実験1と全く同様にして行つた。ただし使用菌液濃度は 0.172mg albumin 相当量/cc であつた。

3. 実験結果

えられた結果は Fig. 3 に示してある。すなわち 25°C でえられた菌体の酵素力価が最も強く，ついで 20°C であり，30°C 以上では酵素力価は減少した。殊に 37°C では 25°C でえられた菌体の力価の 1/5 であつた。

実験 5. 培養期間の影響

GALE[2] は一般に細菌のアミノ酸脱炭酸酵素は至適条件下で，菌の発育最終段階に至るまでは酵素形成は行なわれないことをみている。ここでは *P. morganii* の酵素形成と培養期間の関係を調べた。

1. 供 試 菌

P. morganii, ♯71

2. 実験方法

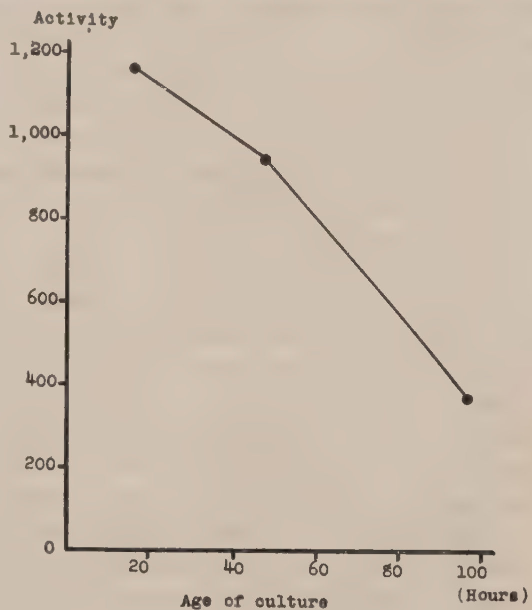
（1） 基礎培地： pH 5.2 に修正したサバエキス培地を 15cc ずつ分注して使用した。

（2） 培養条件： 供試菌を同一条件で2本ずつの基礎培地に移植し，37°C で 16, 48, 96 時間培養した。

（3） 洗滌菌体懸濁液の調製および酵素力価の測定法： 実験1と同様に実施した。ただし力価測定の際の菌液の濃度は 0.344 mg albumin 相当量/cc であつた。

3. 実験結果

えられた結果は Fig. 4 に示してある。*P. morganii* の発育は大体 16 時間で静止期に達するが，酵素力価はこの段階を過ぎると漸減し，48 時間では 80%，96 時間では 32% と力価は減退する。



Activities expressed as, γ histamine/mg. bacterial protein/hr. at 37°C.

Fig. 4. Effect of Age of Culture on Development of *l*-(−)-Histidine Decarboxylase in Growing Bacteria.

考 察

1. GALE[2] によれば *E. coli* の *l*-lysine, *l*-arginine, *l*-ornithine, *l*-glutamic acid, *l*-histidine, *l*-tyrosine の6種のアミノ酸脱炭酸酵素は，それぞれのアミノ酸を基質として加えて始めて適応的に形成されるという。EPPS[3] も *Cl. perfringens* の *l*-histidine 脱炭酸酵素について同様な結果をえている。今回の *P. morganii* の実験でも，本酵素が適応的に形成されることが確められた。しかし基質の添加量と酵素力価の関係をみると，適応は 10^{-3}M 以上の添加ではじまるが，2×10^{-3}M 以上で最高値を示し，それ以上 10^{-1}M までは同じ力価であるが，10^{-3}M では適応は不完全で 2×10^{-3}M の 1/100 に過ぎなかつた。

一方魚肉中の histidine 含量は魚種によつて著しく異つている。日引ら[7] によれば，赤身の魚種の筋肉には histidine が多量に含まれ，ソウダガツオ，ブリ，メバチ等では M/15，サバでは約 M/20，イワシ M/25，中でもサンマが最高で M/10 にも達する。中間色のアジでは M/40～M/100，白身の魚種では一般に少く，ヒラメ，カレイ，フク類では約 M/3000， タイ， キスでは M/400， イカ，タコ等の軟体動物では

M/500～M/1000 程度しか含まれていない。*P. morganii* が増殖して histamine を作る際には，histidine の多少によつて当然生成量が異るが，M/500 以下ではたとえ菌の増殖が起つても，適応が十分に行なわれないので histidine の分解もまた十分ではないであろう。これも自身の魚肉の histamine 生成量の少い 1 原因となつていると考えられる。

2. 培地の pH と脱炭酸酵素形成の関係について，GALE[2] は *E. coli* および *Cl. perfringens* はともに pH 7 以下殊に pH 5 附近で最も酵素力価の高い菌体をえている。今回の実験でも *P. morganii* についても pH 5.1（発育の認められた最低 pH）で最も強い力価がえられた。しかし本菌の酵素形成は pH 5.1～8.6 という広範囲で行なわれ，殊にアルカリ側で形成が行なわれたことが注目された。pH 5.5～7.3 の範囲では pH 5.5 にくらべ力価は 40～60%，pH 7.6～8.7 では約 10% であつた。相磯ら[8]によると *P. morganii* の *l*-histidine 脱炭酸酵素形成は酸性側の方が盛んであるが，中性附近でも形成するところから，該菌が一旦酸性で発育するなら，その後アルカリ側に傾いてもなお力価は失われないという。筆者らの実験でははじめからアルカリ側に接種して，その間培地の pH が決して酸性側に下らなかつたにも不拘，酵素形成が行なわれることが確められた。この事実は，一般に脱炭酸酵素は特定の基質中で非解離の －COOH が存在してはじめて適応的に形成されるという GALE[2] の見解に照し合わせてみて興味がある。

3. *E. coli* をカゼイン水解物中で培養するときには脱炭酸酵素形成には炭水化物の存在が必要であるとされている[9]。その理由は菌が糖を分解して培地の pH を下げるので酵素形成が促進されるためと考えられている。筆者らの実験は腐敗中毒に主眼をおいたのでサバエキスを使用した。*P. morganii* はサバエキス単独でも十分発育し，酵素形成を行なうので，この実験方法では酵素形成にブドウ糖を必要とするかどうかを知ることはできない。むしろサンマ桜干しのように醗酵性の糖を含んだ調味液で魚肉を処理したときの菌の増殖，脱炭酸酵素形成に対する影響を知るための実験である。0.1% の糖の添加では酵素力価は余り上昇しなかつた，これは培養後の pH が 6.35 であつたためであろう。しかし 0.5～5% 添加のた場合 pH の低下は顕著で，最終 pH は 5.6～5.5 とほぼ一定値を示した。一方，酵素形成は促進され 0.5～2% までは一定であつたが，3% 以上では反つて阻害が起つた。特に 5% では菌の発育も阻害され，培養後の pH は 5.5 と最低であつたにかかわらず，酵素力価は 0.5～2% 添加のときの 16% という低い値を示した。この事実は pH の低下だけでは酵素形成促進が説明されないことを示している。

4. 培養温度の影響について EGGERTH[10]は数種の細菌の histamine 形成は 37°C より低い方が大であることを見，GALE[2] は *E. coli* のアミノ酸脱炭酸酵素形成は 37°C では阻害され，20～26°C を至適温度と考えた。しかしEPPS[3] は *Cl. perfringens* では 37°C がよいと指摘している。筆者らも今までは *P. morganii* の発育至適温度で培養した菌体について酵素作用を検討したが，実験 4 の結果，25°C で発育した菌が最も強い酵素作用を示し 20°C がこれについでいた。30°C 以上では温度上昇とともに力価は減少し，37°C では 25°C でえた菌体の酵素力価の 1/5 であつた。相磯ら[8] は *P. morganii*, AY 株の培養液中に生成した histamine 量が 27～37°C の間では大差のないことから，酵素力価は同じであろうと考えているが，これは必ずしも菌体中の酵素力価が同じであるということにはならない。37°C では 27°C よりも菌の発育が旺盛である。それ故ある一定時間を限つてみると，菌体中の酵素力価は低くとも菌量が多く，また酵素の反応速度も当然大になるので培養液中の反応生成物量が同じ位の量であることもありうるであろう。したがつて反応生成物の量で酵素力価の評価を行なうことは困難であろう。

5. 培養期間の影響について GALE[2] は培養時間とともに酵素形成は増大していつて，菌の分裂が停止する段階で最高に達することを見ている。今回の実験でもほぼ同様の結果がえられたが，静止期を過ぎると菌体中の酵素力価が低下する。すなわち 16 時間を一応静止期に入つた段階と考えると，48 時間では 16 時間の時にくらべ力価は 80%，96 時間では 33% と時間の経過とともに力価の減退が起つた。

総　　括

Proteus morganii, #71 株について *l*-histidine 脱炭酸酵素形成に関与する因子の研究を行なつた。え

られた結果はつぎのように要約される。

1. 本菌の酵素形成は適応的に行なわれる。十分な酵素形成には 2×10^{-3}M 以上の基質（*l*-histidine）を必要とする。

2. 培地の pH は酵素形成に密接な関係があり，pH 5.1（発育しうる最低 pH）でえられた菌体の酵素力価が最も高く，pH 5.5～7.3 では pH 5.1 の約 50% であつた。しかし pH 7.6～8.7 というアルカリ側で発育した菌体でも pH 5 の 10% 程度の力価を示したことが注目される。

3. 培地に醱酵性の糖（ブドウ糖）を添加するとき，0.5～2% までは酵素形成が促進された。しかし 0.1% では不十分で，3～5% では酵素形成が阻害された。

4. 菌の発育は 37°C が最良であるが，酵素力価は 25°C でえられた菌体が最も高く，20°C がこれについでいた。培養温度が 30°C 以上では力価の減退が起り，37°C でえた菌体は 25°C の 1/5 の力価に過ぎなかつた。

5. 菌体中の酵素力価は発育静止期を過ぎると低下する。37°C で行なつた実験では 16 時間（静止期）に較べ 48 時間では 80%，96 時間では 33% であつた。

本研究を行なうに当り，種々御教示，御鞭撻を頂いた予研食品衛生部長[illegible]先生，東大名誉教授[illegible]高次郎先生に厚く御礼申し上げます。

文　献

1) 河端俊治・鈴木　茂：本誌，**25**，473～487 (1959).
2) E. F. GALE: Ahvances in Enzymology, **VI**, 1 (1946).
3) H. M. R. EPPS: Biochem. J., **39**, 42 (1945).
4) 塚本信之：日細菌，**12**，443 (1957).
5) O. H. LOWRY: J. Biol. Chem., **193**, 265 (1951).
6) R. S. BREED, E. G. D. MURRAY & N. R. SMITH: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 7th Ed., 366 (1957).
7) 日引重幸・清水　亘：日水誌，**24**，913 (1959).
8) 相磯和嘉・豊浦秀世・藤田久稔：日細菌，**10**，1015 (1955).
9) E. F. GALE: Biochem. J., **35**, 64 (1941).
10) A. H. EGGERTH: J. Bact., **37**, 205 (1939).

飲食品の汚染指標としての腸球菌に関する研究—II.
糖類分解能に基ずく菌型分類

堀　江　　進

(1959 年 6 月 30 日受理)

STUDIES ON ENTEROCOCCI AS POLLUTION INDICES OF FOOD AND DRINK—II. SUBDIVISION OF ENTEROCOCCI ON THE BASIS OF THE FERMENTATION TESTS.

Susumu HORIE*

By using the dextrose azide-ethyl violet azide broth method many strains of enterococcus group were isolated from feces, soils, waters and foods. According to the seventh edition of Bergey's manual the majority of these strains belonged to *Streptococcus faecalis* and the remaining strains were identified with *Streptococcus faecalis* var. *liquefaciens*. On the basis of the fermentation tests, these strains were divided into three distinct types: Type I ferments mannitol and arabinose, but not sorbitol and glycerol. Type II does not ferment all of these carbohydrates. Type III ferments mannitol, sorbitol and glycerol, but fails to ferment arabinose.

Although considerable number of strains of these three types were isolated from human feces, particularly type I accounting for about the half of them. In the animal-derived strains, on the other hand, type II predominated over the strains belonging to type I or III. Almost all strains isolated from polluted waters and soils belonged to type I or II. On the contrary only gelatin-liquefying organisms of type III were generally isolated from uncontaminated soils and waters in the mountains. Most of strains belonging to type III derived from human and animal feces failed to liquefy gelatin. The above-mentioned facts suggest that gelatin-liquefying organisms of type III may be of nonfecal origin. Most of significant strains of enterococcus group available as indices of pollution may probably be classified into three types mentioned above.

緒　　言

腸球菌** (enterococci) は現在 genus *Streptococcus* の中の明確に区分された一つの細菌群として分類されているが，本菌の分類学的研究の発展については，DIBLE[1]，LANCEFIELD[2]，SHERMAN 等[3-8]の卓越した業績に負うところが大であるが，これに関しては，その他多数先人[9-18]の研究がある。従来の報告によれば，腸球菌には種々の特性が認められているが，genus *Streptococcus* において，本菌群に独特といえる性状は比較的少ない。genus *Streptococcus* の血清学的分類において，腸球菌は LANCEFIELD D 群に属するとされているが，SHATTOCK[13] は viridans group に属する *Str. bovis* において group D antigen の存在を示した。10°C および 45°C で発育しうる点は，腸球菌の基本的重要な特性とみられているが，lactic group は 10°C で発育し，viridans group は 45°C で発育する。しかし 6.5% NaCl の存在並びに pH

* 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish., Minato-ku, Tokyo, Japan.).

** ここに腸球菌とは，Bergey's manual において，enterococcus group と称している一群の細菌を意味する。本論文で腸球菌群と称するものも，これと同義語である。

9.6の培地における発育は genus *Streptococcus* において，腸球菌独特の性状と一応考えられている。また0.1% メチレンブルー牛乳に発育しうる点も本菌群の特性とされているが，lactic group は同様発育しうるし，また一方，本菌群の中にこの性状を欠く菌株のあることが観察されている。60°C, 30 分の熱抵抗性を本菌群の特性とすることについては，疑問視する報告がある。しかし，いずれにしても，上記の諸性状の検査その他の方法を綜合することによつて，腸球菌の分類学的位置は明瞭に確立されているとみてよいであろう。本菌群に属する種(species)の分類学的問題に関しては，古くより種々の学説がある。Bergey's manual の第6版[19] においては，*Streptococcus faecalis*, *Str. liquefaciens*, *Str. zymogenes* および *Str. durans* の4種に分類されていたが，第7版[20] では前の3者を同一の種に包括し，結局 *Str. faecalis*, *Str. faecalis* var. *liquefaciens*, *Str. faecalis* var. *zymogenes* および *Str. durans* とされた。*Str. faecalis* var. *liquefaciens* はゼラチンの液化力等の蛋白分解力に関連した性状のみで，また *Str. faecalis* var. *zymogenes* は β 溶血性によつて，それぞれ *Str. faecalis* と区分されているに過ぎない。*Str. faecalis* の糖類分解能について，種々記載されてはいるが，これらの記載は *Str. faecalis* var. *liquefaciens* および *Str. faecalis* var. *zymogenes* にも共通のものであり，これら3者の区別には一応無関係とされている。これらの菌種は腸球菌群の主要な部分を占めており，糖類分解能その他の諸性状において，種々異なつた菌型 (type) を包含するものとみられる。ORLA-JENSEN による糖類分解能に基ずいた腸球菌の分類について，GUTHOF 等[14]は詳細に記述しているが，それによれば，ORLA-JENSEN は腸球菌群を3種に分類した。ORLA-JENSEN の分類と Bergey's manual 第7版における分類との関係を Table 1 に示した。なおこの場合，β 溶血性菌種は対象となつていない。

Table 1. Subdivision of enterococci described by ORLA-JENSEN.

Species according to ORLA-JENSEN	Fermentation test			Liquefaction of gelatin	Classification according to Bergey's manual 7th. ed.
	Sorbitol	Glycerol	Arabinose		
Str. faecium	−*	−	+	−	*Str. faecalis*
Str. glycerinaceus	+	+	−	−	*Str. faecalis*
Str. liquefaciens	+	+	−	+	*Str. faecalis* var. *liquefaciens*

* Rare exceptions are found.

また GUTHOF 等は β 溶血性を有しない腸球菌の分離菌株について研究し，2種の群に分類した。第1群に属する菌株は生化学的性状が均一であつて，tellurium 抵抗性が強く，ゼラチンを液化する菌株と，しからざるものとを含む。第2群は tellurium 非抵抗性で，生化学的性状を種々異にした多数の type を含むものであつた。これらの研究よりみて，従来 *Str. liquefaciens* と称されているもので代表さるべき，かなり明瞭に区分された1つの菌群の存在が示唆される。*Str. durans* は Bergey's manual では独立した種とされているが，β 溶血性を有する点および普通蔗糖を分解しない点で *Str. faecalis* と異なる。

著者は人および諸動物の糞便，水，土壌，食品類等から腸球菌群の菌株を分離し，これらについて糖類分解能その他の性状を観察したところ，分離菌株の総ては Bergey's manual の分類による *Str. faecalis* および *Str. faecalis* var. *liquefaciens* に包括されるべきものであり，かつ，これらの菌株は糖類分解能に基ずいて，比較的明瞭に区分された3種の type に分類できることを認めたので，これについて報告する。

実験材料および方法

I. 菌株の蒐集

LITSKY 等[21] の dextrose azide-ethyl violet azide broth method を用いて，著者[22] が腸内菌の分布についての観察を行なつた際に，人および諸動物の糞便，種々異なつた環境の水，土壌等から分離した菌株の他に，さらに多数の人の糞便試料と若干の食品，水，土壌および南氷洋の鯨の腸管内容物等の試料から，同様の方法で分離したものを加えた。鯨の試料は大洋漁業の好意によつて，南氷洋より凍結状態で運搬された

抹香鯨の腸管であつて，著者の実験室で注意深い操作で凍結中に切開し，内容物を取り出したものである。以上のごとき各種試料より，420 菌株を分離しえたが，これらの菌株について，グラム染色による形態検査，dextrose broth で 10°C および 45°C における発育，6.5% NaCl を含む dextrose broth および pH 9.6 の dextrose broth，40% 胆汁加血液寒天における発育，その他の性状より腸球菌と認めたものは 313 株であつた。その他に，比較研究のため American Type Culture Collection（以下 ATCC と略す）より腸球菌群に属する 13 菌株の分与を受けた。

2. 生物学的性状の検査法

培地の材料として用いたペプトンは大五栄養化学のポリペプトン，肉エキスはミクニ化学産業のもの，酵母エキスは Difco 製を使用した。また糖類分解能試験に用いた糖類の中で，マンニット，ソルビットおよびアラビノースは Difco のもの，ブドウ糖，乳糖，蔗糖およびグリセロールは和光純薬工業の特級，マルトース，ラフィノース，キシロースおよびラムノースは東京化成工業の特級を使用した。また抗生物質として，ペニシリン G Na 塩，ジヒドロストレプトマイシン硫酸塩（いずれも明治製菓のもの）およびクロルテトラサイクリン塩酸塩（日本レダリー）を使用した。

10°C および 45°C における発育試験は，dextrose broth (1% ペプトン，0.5% 肉エキス，0.2% NaCl，1% ブドウ糖，pH 7.2) に 37°C で 24 時間培養したものを，同じ dextrose broth に接種し，10°C の場合は 6 日間，45°C の場合は 48 時間培養後の発育の有無を観察した。6.5% NaCl を含む dextrose broth，pH 9.6 の dextrose broth における発育試験は，それぞれ上記 dextrose broth の NaCl 含量または pH を変え，培養温度を 37°C とした他は，上記の方法に準じて行なつた。溶血性試験用血液寒天および 40% 胆汁加血液寒天には，いずれも 5% の馬の脱線維素血液を用いた。ゼラチン液化試験には 1.5% ペプトン，0.5% 肉エキス，0.5% 酵母エキス，0.5% NaCl，0.1% ブドウ糖，15% ゼラチンの組成の培地を用い 22°C で 20 日間培養観察した。0.1% メチレンブルー牛乳およびリトマス牛乳における培養は，37°C で 18 日間にわたり観察し，その結果をつぎのごとく分類して示した。

0.1% メチレンブルー牛乳—A：メチレンブルーを還元しない，C：メチレンブルーを還元するが，牛乳を凝固しない，M：メチレンブルーを還元し，牛乳を一様に凝固し，全体的に流動性を失なう，N：メチレンブルーを還元し，牛乳を凝固し，乳清を析出する。

リトマス牛乳—S：牛乳を凝固しない，T：一様に凝固し，流動性を失なう，P：凝固し，乳清を析出し，凝固部分は長い塊となり，多くの場合試験管の底または壁に附着する，Q：凝固し乳清を析出し，凝固部分は液の上層部に浮上して集まり軟かく，さらに表面より数 mm の厚さの帯状赤色部が現われることを特徴とする。

熱抵抗試験は dextrose broth の 37°C，24 時間培養菌の 3 白金耳を予め恒温水槽で 60°C に保たれた同一組成の dextrose broth 試験管に接種し，60°C で 30 分間保つた後，直ちに冷却し，37°C で 48 時間培養後発育の有無によつて判定した。抗生物質の最小発育阻止濃度の測定は，dextrose agar (1% ペプトン，1% 肉エキス，0.2% NaCl，0.5% ブドウ糖，2% 寒天) を用い，本培地より寒天を除いた組成の dextrose broth における 37°C，24 時間培養菌を画線し，37°C で 18 時間培養後の結果を記録した。なお dextrose agar の pH は，ストレプトマイシンの場合は 7.0 とし，クロルテトラサイクリンおよびペニシリンの場合は 6.5 とした。糖類分解能試験には 1% ペプトン，0.3% 酵母エキス，0.5% NaCl，0.0024% ブロムチモールブルーの基本組成に，各糖類を 1% 添加し pH 7.4 とし，小試験管に 2 ml 宛分注し，100°C，15 分間宛，3 日間滅菌した培地を用いた。ブイヨンに 24 時間培養した菌を上記培地に接種し，37°C で 48 時間培養後の酸の生成を培地の黄変によつて記録した。

実 験 結 果

dextrose azide-ethyl violet azide broth method を用いて分離した 420 菌株について，グラム染色検査，10°C，45°C，6.5% NaCl，pH 9.6，40% 胆汁等の条件の発育試験，β 溶血性，60°C 30 分の熱抵抗，ゼラチン液化，0.1% メチレンブルー牛乳における発育，マンニット，ソルビットの分解等の検査を行なつた。観察の結果，双球状または稀れに連鎖状を示すグラム陽性の球菌で，10°C および 45°C，6.5% NaCl，pH 9.6，40% 胆汁等の条件で発育したものは 313 株で，これらは一応腸球菌群に属するものと認めた。その中の幾つかの菌株は，0.1% メチレンブルー牛乳に発育せず，また相当数の菌株は 60°C，30 分の熱抵抗性を欠い

Table 2. Physiological properties of some strains isolated from various sources.

Strain: Source		No.	Heat resistance at 60°C	Liquefaction of gelatin	0.1% Methylene blue milk	Litmus milk	Minimum growth-inhibiting concentration: Streptomycin (γ per ml)	Chlortetracycline (γ per ml)	Penicillin (u per ml)	Fermentation: Dextrose	Lactose	Maltose	Sucrose	Mannitol	Sorbitol	Glycerol	Arabinose	Raffinose	Xylose	Rhamnose
Feces	Human	Y 137	+	−	M	P	25	1.0	2.5	+	+	+	+	+	−	−	+	+	−	+
	〃	Y 69	−	−	M	T	100	2.5	2.5	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	+
	〃	Y 82	+	−	M	T	25	1.0	0.5	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−
	Rabbit	N 15	+	−	M	T	50	1.0	1.0	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−
	Guinea pig	N 18	−	−	M	P	25	1.0	<0.1	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−
	Brown rat	N 19	−	+	N	Q	100	2.5	5.0	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	+
	Bovine	N 30	+	−	C	P	50	1.0	2.5	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−
	Horse	N 32	+	−	M	P	50	2.5	1.0	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−
	Pig	N 39	+	−	C	T	100	1.0	2.5	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−
	Cat	N 44	+	−	C	S	50	1.0	1.0	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−
	Monkey	N 46	−	−	M	T	100	2.5	5.0	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	+
	Goat	N 72	+	−	M	P	50	1.0	2.5	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−
	Racoon-dog	N 77	−	−	M	P	25	1.0	0.5	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−
	Fox	N 85	+	−	M	T	25	1.0	5.0	+	+	+	+	+	−	−	+	−	−	+
	Antelope	N 89	+	−	A	P	25	1.0	2.5	+	+	+	+	+	−	−	+	+	−	+
	Bear	N 93	+	−	M	P	25	1.0	1.0	+	+	+	+	+	−	−	+	+	−	+
	Giraffe	N 125	+	−	C	S	50	1.0	<0.1	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−
	Lion	N 131	+	−	M	P	25	1.0	0.5	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−
	Leopard	N 133	−	+	N	Q	100	2.5	2.5	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	+
	Deer	N 134	−	−	M	T	25	2.5	1.0	+	+	+	+	+	−	−	+	+	+	−
	Crane	N 64	−	−	N	Q	100	2.5	5.0	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−
	Cassowary	N 120	+	−	M	P	50	1.0	1.0	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−
	Snake	N 80	+	−	M	T	50	1.0	2.5	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−
Water of mountain stream		W 15	−	+	N	Q	100	2.5	5.0	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	+
Sea-water from oyster bed		K 8	+	−	M	T	25	1.0	1.0	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−
Soil from mountain		K 38	−	+	N	Q	100	2.5	5.0	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	+
Soil from farm		H 18	+	−	M	T	50	2.5	1.0	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−
Mud from oyster bed		K 19	+	−	M	P	25	2.5	5.0	+	+	+	+	+	−	−	+	+	−	−
Fresh fish		T 9	+	+	N		50	2.5	2.5	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	+
〃		T 12	+	−	A		100	1.0	2.5	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	+
〃		T 21	+	−	M		50	1.0	0.25	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−
Oyster		K 17	+	−	M	T	100	1.0	5.0	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−
Intestinal contents of whale		T 45	−	+	N		250	2.5	2.5	+	+	+	−	+	+	+	−	−	−	+

ていた。一方β溶血性を有する菌株は全く見出されなかった。分離菌株の一部について，さらに3種の抗生物質に対する抵抗性，9種の糖分解試験を行なった。上記の実験結果の一部をTable 2に示した。

総ての菌株はブドウ糖ならびにマルトースを分解した。また，ほとんど総ての菌株は乳糖ならびに蔗糖を分解

した。その他7種の糖類についての結果は菌株により異なるが，マンニット，ソルビット，グリセロールおよびアラビノースの4種をとりあげてみると，type Ⅰ (マンニット ＋，ソルビット －，グリセロール －，アラビノース ＋), type Ⅱ (マンニット －，ソルビット －，グリセロール －，アラビノース －), type Ⅲ (マンニット ＋，ソルビット ＋，グリセロール ＋，アラビノース －) の3種の type に大別されることが示された。137 の供試菌株について，種々の糖類分解能を示した菌株数を，それぞれ分離された検体別に示したのが Table 3 である。

Table 3. Frequency of strains differentiated in fermentative characteristics.

	Type Ⅰ							Type Ⅱ	Type Ⅲ						Atypical strain				Total
Dextrose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Lactose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	+	+	+	+	+	
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Sucrose	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+	+	−	+	+	−	+	
Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+	+	+	−	−	+	
Sorbitol	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+	+	−	−	−	+	
Glycerol	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+	+	−	−	+	−	
Arabinose	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	
Raffinose	−	+	−	+	−	+	−	−	−	−	+	−	−	−	+	+	−	−	
Xylose	−	−	−	−	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	
Rhamnose	+	+	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	−	+	−	−	−	+	
Source: Human feces	5	8	6	4	2	1	1	14	11	2				1		1	1	1	58
Source: Animal feces	2	2				1		17	2	3				2					29
Source: Water		2		1		1		3	5	1					1	1			15
Source: Soil			1	1				7	3	4	1								17
Source: Food		2	2					5		3	2	2	2						18
Total	7	14	9	6	2	3	1	46	21	13	3	2	2	3	1	2	1	1	137
	42							46	44						5				

Table 3 に示されるごとく，マンニット ＋，ソルビット －，グリセロール －，アラビノース － のもの1株，マンニット －，ソルビット －，グリセロール －，アラビノース ＋ のもの2株，マンニット －，ソルビット －，グリセロール ＋，アラビノース － のもの1株，マンニット ＋，ソルビット ＋，グリセロール －，アラビノース － のもの1株の合計5株を除いて，132 株は上記3種の type に区分された。試験菌株数がこの区分によつてほぼ3等分されたことは偶然ではあろうが興味深い。著者の使用した試験菌株に関する限りでは，糖類分解能に基ずくこのような分類は，相当明瞭に区分された3種の type を示すように思われる。試験菌株の中には，β 溶血性を有する菌株はなかつたので，Bergey's manual 第7版の分類法では，総て *Str. faecalis* および *Str. faecalis* var. *liquefaciens* に属するものとみなされる。この両者は蛋白分解力に関連した性状によつて区分されているので，ゼラチン液化，0.1% メチレンブルー牛乳，リトマス牛乳等の試験結果と上記3種の type との関係を Table 4 に示した。60°C，30 分の熱抵抗試験の結果も併せて表示した。また Table 4 において，type Ⅲ はさらに，A (0.1% メチレンブルー牛乳で乳清を析出することなく，かつゼラチンを液化しない)，B (0.1% メチレンブルー牛乳において，乳清を析出するが，ゼラチンを液化しない)，C (0.1% メチレンブルー牛乳において，乳清を析出し，かつゼラチンを液化する) の3群に分類表示した。

Table 4. Some physiological responses shown by enterococcal strains of different types.

Strains examined		Characteristic response to											
		Liquefaction of gelatin		0.1% Methylene blue milk				Litmus milk				Survival 60°C, 30min.	
Type	Number	+	−	A	C	M	N	S	T	P	Q	+	−
Type I	41	0	41	17	6	18	0	5	18	18	0	35	6
Type II	39	0	39	1	13	25	0	4	15	20	0	30	9
Type III A	11	0	11	0	0	11	0	0	10	1	0	3	8
Type III B	9	0	9	0	0	0	9	0	0	0	9	2	7
Type III C	15	15	0	0	0	0	15	0	0	0	15	5	10
Total	115	15	100	18	19	54	24	9	43	39	24	75	40

Figure represents the number of strains which showed the corresponding response.

Table 4 に示すごとく，ゼラチンを液化する菌株は type Ⅲ のみに限られ，かつその菌株数は試験された type Ⅲ の 35 株の中の 15 株であつた。0.1% メチレンブルー牛乳で牛乳を凝固し，乳清を析出した菌株は，同様 type Ⅲ に限られ，その数は 24 株であつた。また，この 24 株はリトマス牛乳試験において，全く一様で，かつ独特の結果を示した。また type Ⅲ に属する他の 11 株は，上記3種の試験では，type Ⅰ および Ⅱ に属する菌株と区分されなかつた。type Ⅰ および Ⅱ に属する菌株の多くは 60°C, 30 分の熱抵抗性を示したが，type Ⅲ については反対の結果がえられた。ストレプトマイシン，クロルテトラサイクリンおよびペニシリンの各 type の菌株に対する最小発育阻止濃度を Table 5 に示した。

Table 5. Growth-inhibitory action of antibiotics on enterococcal strains of different types.

Strains		Minimum growth-inhibiting concentration of antibiotics													
		Streptomycin (γ per ml)				Chlortetracycline (γ per ml)				Penicillin (u per ml)					
Type	Number	250	100	50	25	5.0	2.5	1.0	<1.0	5	2.5	1.0	0.5	0.25	<0.25
Type I	44	0	5	5	34	2	6	36	0	12	20	3	5	2	2
Type II	45	0	3	24	18	0	7	30	8	3	8	13	13	5	3
Type III	45	6	37	2	0	2	38	5	0	15	28	2	0	0	0

Figure represents the number of strains.

ストレプトマイシンの 50γ per ml で，type Ⅰ および Ⅱ に属する 89 株の中，81 株は発育を阻止されたが，type Ⅲ に属する 45 株においては，僅かに2株のみが発育を阻止された。またクロルテトラサイクリンの 1γ per ml で発育を阻止されたのは，type Ⅰ および Ⅱ の 74 株に対し，type Ⅲ では僅か5株に過ぎなかつた。この両抗生物質に対する抵抗性に関する限り type の分類との相当強い関連性が見られた。ペニシリンの場合には，分類との関係で，それ程興味ある結果はえられなかつた。

分離した腸球菌の全菌株について，マンニットおよびソルビットの分解能試験の結果によつて type の分類を行ない，各 type の菌株数を source 別に示したのが Table 6 である。

もちろん本表における type の分類はマンニットおよびソルビットのみの結果に基ずいたものであるから正確なものとはいえないが，大体の状態をうかがうには充分であろう。人の糞便より分離された 157 株の中の約半数に相当する 77 株は type Ⅰ に，43 株は type Ⅱ に，37 株が type Ⅲ に属したが，type Ⅲ の中，ゼラチン液化株は僅か1株にとどまつた。また他の諸動物の場合には 62 株の中，type Ⅱ が 45 株で 70% 以上を占め，type Ⅰ は 11 株，type Ⅲ は6株であつた。南氷洋の鯨の腸管内容物より，腸球菌の2

Table 6. Sources of enterococcal strains different in type.

Source		I	II	III A	III B	III C	Total
Feces	Human	77	43	14	22	1	157
	Animal	11	45	3	1	2	62
Intestinal contents of whale						2	2
Water	Mountain stream			1		10	11
	Well	1					1
	Down-stream of river	3	1		1		5
	Drainage of slaughter-house		1				1
	Oyster bed	3	3				6
Soil	Mountain					19	19
	Farm		4				4
	Garden	1	2			1	4
Mud at oyster bed		2	6				8
Food	Fresh fish		4	3		3	10
	Oyster		6	1			7
	Others	12		4			16
Total		110	115	26	24	38	313
				88			

Figure represents the number of strains.

株を分離したが，本菌株は蔗糖を分解しない点とストレプトマイシンの最小発育阻止濃度がやや高く，250γ per ml であつた点とを除いて，type ⅢC に属する菌株とほぼ同様の性状を有するものであつた。水および土壌についてみると，汚染を受けていないと思われる山岳地で分離された菌株は，ほとんどすべて type ⅢC に属し，これに反し汚染された環境からのものはほとんど type Ⅰ および Ⅱ に属することが示された。食品からは type ⅢB を除く各 type の菌株が見出された。一方 1957 年9月に ATCC より分与された 13 菌株について，糖類の分解能その他若干の性状を観察し，その結果を Table 7 に示した。

Table 7. Physiological properties of enterococcal strains of ATCC.

Strain		Growth: At 45°C	Growth: In broth with 6.5% NaCl	Growth: In broth of pH 9.6	Liquefaction of gelatin	0.1% Methylene blue milk	Fermentation: Dextrose	Lactose	Maltose	Sucrose	Mannitol	Sorbitol	Glycerol	Arabinose	Raffinose	Xylose	Rhamnose	Type
Str. faecalis	ATCC 8043	+	+	+	−	C	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	Ⅱ
Str. faecalis	ATCC 10541	+	+	+	−	M	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	Ⅱ
Str. liquefaciens	ATCC 4532	+	+	+	+	N	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	ⅢC
Str. zymogenes	ATCC 10100	+	+	+	+	N	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	ⅢC
Str. durans	ATCC 9810	+	+	+	−	M	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−	Ⅱ
Str. faecalis	ATCC 9790	+	+	+	−	C	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	Ⅱ
Str. faecalis	ATCC 8022	+	+	+	−	C	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	Ⅱ
Str. faecalis	ATCC 6569	+	+	+	−	M	+	+	+	+	+	−	−	+	−	−	−	Ⅰ
Str. faecalis	ATCC 6057	+	+	+	−	M	+	+	+	−	+	−	−	+	−	−	−	Ⅰ
Str. faecalis	ATCC 4835	+	+	+	−	C	+	−	+	+	+	+	+	−	−	−	−	ⅢA
Str. zymogenes	ATCC 6054	+	+	+	−	N	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	ⅢB
Str. durans	ATCC 423	+	+	+	−	C	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	Ⅱ
Str. durans	ATCC 6056	+	+	+	−	M	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−	Ⅱ

糖類分解能によつて，仮に上記3種の type に分類したところ，全菌株ともに，これらのいずれかの type にあてはまつた。 *Str. faecalis* の7株の中，4株は type II，2株は type I，1株は type III，*Str. liquefaciens* の1株および *Str. zymogenes* の2株はいづれも type III，*Str. durans* の3株は type II の性状をそれぞれ示した。なお *Str. durans* ATCC 9810 および *Str. durans* ATCC 6056 の2株は蔗糖分解能を欠いている。

考　　　察

本研究で対象とした菌株は比較的限られた検体より，特定の方法により選択培養し，分離検出されたもので，ここにえられた知見は，このように限定された菌株に関するものである。糞便より分離された腸球菌の性状や type の分類については，GUTHOF 等[14] および COOPER 等[15]の報告があるが，彼等の観察結果が本研究のそれと相当趣きを異にするとしても，それは地理的条件および分離検出法等の相違を考えれば，敢えて問題とするには当らない。著者の分離菌株の中には，β 溶血性菌株を見出だしえなかつたが，COOPER 等は人の糞便より *Str. faecalis* var. *zymogenes* および *Str. durans* を，また羊の場合に *Str. faecalis* var. *zymogenes* を分離している。これらの菌種が糞便に分布していることは従来から知られていることであり，著者の取り扱かつた試料にも恐らく存在していたものと思われるが，現実には検出されるに至らなかつた。汚染指標細菌としての見地に立つて重要な菌種は，人および動物の排泄物中に常に多数存在するものであり，これら優勢な菌種と共存はするが，数的に劣勢であるため，普通の検出法における培養過程では優勢菌種に抑制され検出され難いような菌種は，本研究の対象としては重要なものではない。今回の分離菌株のほとんど総ては *Str. faecalis* に包括されるべきものであり，少数が *Str. faecalis* var. *liquefaciens* であつた。これらの菌株は恐らくそれぞれの検体において多数を占めるもので，汚染指標としての見地から腸球菌群の中の重要なる type をある程度代表するものと見ることができる。分離菌株は糖類分解能に基ずき，Bergey's manual に記載されている typical の *Str. faecalis* および *Str. faecalis* var. *liquefaciens* を包括するものと考えられるべき type III と ORLA-JENSEN の *Str. faecium* に相当する type I およびマンニット非分解性の特徴ある一群を含む type II に分類された。糖類分解能試験の結果は，48 時間後の観察によつて記録されているが，GUNSALUS 等[23] の指摘するごとく，特にグリセロールの場合には，培養日数によつて，結果の表示が異なるであろうから，他の研究でグリセロールを分解するとされている菌株も，この報告においては非分解性株として記載されているものが多数あると考えられる。COOPER 等および GUTHOF 等の分離菌株には，type III および type I に相当すべきものはかなり見出だされるが，type II の性状を有するものは非常に少数のようである。また SHERMAN 等[8] は *Str. faecalis* に属する多数の菌株について，糖類分解能を観察したが，マンニットを分解しない菌株はきわめて少数であり，これらを別の type としては認めていない。すなわちここで述べる type II の存在を見出だしていない。今回の観察によれば，人の糞便において最も多数検出されたものは type I であり，これについで type II および type III が相当数みられるが，type III についてみると，1株のみがゼラチン液化菌で，他はすべてゼラチンを液化することなく，typical の *Str. faecalis* に相当すべきものであつた。一方，動物の場合には趣きを異にし，tppe II が特に多数を占め，type I および III は少数であつた。type II は糖類分解能の点で，むしろ *Str. durans* に近似するが，β 溶血性を有しないのみならず，蔗糖を分解する等の点から，*Str. faecalis* に属すべきものである。type I，type II および type III の中のゼラチン非液化菌によつて，人および動物の糞便より分離された菌株のほとんど総てを占めているが，中でも type I および II は主要なものであり，これらの type が汚染指標として腸球菌を取り扱かう場合に重要な意義を有するものであろう。一方，汚染を受けていないと思われる山岳地の水や土壌では，上記の諸 type は見出だされず，対照的に分離菌株のほとんど総てがゼラチン液化菌（type IIIC）であつて，本菌の汚染指標としての意義についてはなお検討される必要がある。また人の生活とまず無関係と思われる南氷洋の鯨の腸管内では，人および一般動物で多数を占めた type は見出だされず，ゼラチン液化菌のみが検出されたことは興味がある。

本実験の結果では，分離菌株が意外に簡単に，かつ明瞭に3種の type に分類されたが，既に述べたごとく，検出法が異なつたり，また同じ検出法を用いても，地理的条件や検体が変れば，分離菌株の様相も異なり，さらに別の type の存在が見出だされるかも知れない。 しかしながら，ATCC の菌株も一応上記3種の type に明瞭に分類されており，少なくとも非 β 溶血性の腸球菌の相当重要な部分が，本研究で示された3種の type に包括されるものとみることができるであろう。

摘　　要

人および動物の糞便，食品，水，土壌等から，dextrose azide-ethyl violet azide broth method を用いて，多数の腸球菌群の菌株を分離した。 Bergey's manual によれば，これらの菌株のほとんどは *Str. faecalis* に属し，少数は *Str. faecalis* var. *liquefaciens* であつた。著者は糖類分解能に基ずいて，これらの菌株を type Ⅰ（マンニット ＋，ソルビット －，グリセロール －，アラビノース ＋)，type Ⅱ（マンニット－，ソルビット －，グリセロール －，アラビノース －)，および type Ⅲ（マンニット ＋，ソルビット＋，グリセロール＋，アラビノース －）の3種の type に分類しうることを見出だした。各 type は糞便試料から検出されたが，特に人の場合には type Ⅰ，動物の場合には type Ⅱ が最も多数分離された。type Ⅲ の中，ゼラチン液化株は糞便試料ではほとんど見出だされず，一方汚染されていない山岳地の水や土壌からは本菌のみが分離された。

終りに臨み，懇篤なる指導と校閲を賜わつた東京水産大学関根隆教授，菌型の分類について，特に指導助言を賜わつた小南清博士に対し，謹んで感謝の意を表する。また実験の一部を担当された吉田多摩夫，小泉千秋の両氏に併せて感謝する。

文　　献

1) Dible, J. H.: *J. Path. Bact.*, **24**, 3 (1921).
2) Lancefield, R. C.: *J. Exp. Med.*, **57**, 571 (1933).
3) Sherman, J. M.: *Bact. Rev.*, **1**, 3 (1937).
4) Sherman, J. M., Stark, P., and Mauer, J. C.: *J. Bact.*, **33**, 483 (1937).
5) Smith, F. R. and Sherman, J. M.: *J. Inf. Dis.*, **62**, 186 (1938).
6) Sherman, J. M.: *J. Bact.*, **35**, 81 (1938).
7) Smith, F. R., Niven, C. F., and Sherman, J. M.: *J. Bact.*, **35**, 425 (1938).
8) Sherman, J. M., Mauer, J. C., and Stark, P.: *J. Bact.*, **33**, 275 (1937).
9) Graham, N. C. and Bartley, E. O.: *J. Hyg.*, **39**, 538 (1939).
10) Bornstein, S.: *J. Bact.*, **39**, 383 (1940).
11) Evans, A. C. and Chinn, A. L.: *J. Bact.*, **54**, 495 (1947).
12) Isaacs, A. and Scouller, J. M.: *J. Path. Bact.*, **60**, 135 (1948).
13) Shattock, P. M. F.: *J. Gen. Microbiol.*, **3**, 80 (1949).
14) Guthof, O. and Winkler, F.: *Zentr. Bakt., I, Orig.*, **162**, 236 (1955).
15) Cooper, K. E. and Ramadan, F. M.: *J. Gen. Microbiol.*, **12**, 180 (1955).
16) Barnes, E. M.: *J. Gen. Microbiol.*, **14**, 57 (1956).
17) Mundt, J. O., Johnson, A. H., and Khatchikian, R.: *Food Res.*, **23**, 186 (1958).
18) Sharpe, M. E. and Shattock, P. M. F.: *J. Gen. Microbiol.*, **6**, 150 (1952).
19) Bergey's manual of determinative bacteriology, 6th ed., (1948).
20) Bergey's manual of determinative bacteriology, 7th ed., (1957).
21) Litsky, W., Mallmann, W. L., and Fifield, C. W.: *Am. J. Pub. Health*, **43**, 873 (1953).
22) 堀江　進: 本誌, **25**, 294 (1959).
23) Gunsalus, I. C. and Sherman, J. M.: *J, Bact.*, **45**, 155 (1943).

抄　　録

トロール船の漁具の大きさ *World Fishing*, 7 (7), 47～49 (1958).　W. DICKSON 氏によつて，比較的小型のトロール船，すなわち機関の馬力数が15馬力から60馬力の範囲のものについてそれぞれの馬力数に適当なオッターボードおよび網の規格が求められ，さらにつぎの比較法則が導かれている。

すなわち

$$\frac{D_m}{D_s}=\left(\frac{M_mN_m}{M_sN_s}\right)^2\times\left(\frac{M_s}{M_m}\right)\times\left(\frac{P_sR_s}{P_mR_m}\right)^{\frac{1}{2}}\times\left(\frac{V_m}{V_s}\right)^2$$

Dは曳網力，Mは目合，Nは網口の目数，Pは網糸比重，Rは網糸単位重量当りの長さ，Vは曳網速度である。ただしこの式は網が相似形であるものとして，また翼網があまり長くない型の網について適用すべきであるとしている。これらのことは機関の馬力数に対してトロール漁具を設計するばあい，オッター・ボードの大きさと網の大きさを決めるのに参考になるし，また網の材料や目合を目的魚の選択によつて変えたいばあいの計算の基礎ともなる。(鈴木)

合理的な漁具の利用　A. J. LEWIS: *Canadian Fisherman*. 45 (1), 15～17 (1958).　英国における漁具の進歩発展は，漁船の発展に比してめざましいものはみられない。それは，時々新らしい漁具漁法が試みられるのだが，結局漁夫達は彼等の古くからの慣例にしたがうのが常で，新らしい漁具漁法を採用することに積極的性を欠くからである。今，長い経験による漁具（底曳）の利用状態をみると，漁具の大きさは普通曳航する漁船の大きさによつて支配されている。すなわち近海操業の船の長さ100フィートの場合は，網は軽い糸で作られた小型のものに，約8×4フィートの小型のトロールボードが使用され，船の長さ100～150フィートのものでは，網は形も重量もやや大きくなり，ボードは$10\frac{1}{2}\times5$フィートのものが使われ，150フィート以上の船になると網はさらに大きく，かつ重くなる。

網目は，小型船で通常コッドエンドで4インチ袖網の先端で5インチ半，中型船で4インチから6インチ，大型船ではさらに目合は大きくなる。また海底が粗い時，あるいは岩磐状の時は，網は重く小さいものを使用し，16インチから22インチ位の鋼か木製のボビンをつけ，ハンドロープは短かいものを，または海底が泥や柔かい場合は，網は軽いものを，そしてボビンの代りにマニラかワイヤーのグランドロープが使用され，長いハンド・ロープが使用されている。(鈴木)

マラカイトグリーン使用による *Trichodina* の駆除　W.F. HUBLOU: *Progr. Fish cult.* **20** (3), 129～132 (1958).　1955年暮に Bonnerille 孵化場で，*Trichodina* の強度の寄生で Steel head trout が多量に死亡した。駆除法として多量の水に対して 1 : 4000 の割合でフォルマリンを用いることは実用的でないことからマラカイトグリーンの効果試験を行なつた。本薬剤の Silver salmon (平均 0.5 g), Steel head trout (平均 15.1 g), Chinook salmon (平均 11.4 g) に対する毒性試験では 1 : 150,000～1 : 375,000 液に24時間水浴しても無害であることがわかつた。強度に寄生している Steel head trout のヒレを切除して，それを各濃度の薬剤を入れたペトー皿に安置し，10分毎に解剖顕微鏡で本虫の状態を観察することによつて，その効果を判定している。本薬剤の濃度は 1 : 200,000～1 : 800,000 で作用中の水温は 48°F 以下に保たれた。この結果，高い濃度で短時間処理するよりも低濃度で長時間処理した方が効果的で，1 : 200,000～1 : 700,000 で80分，1 : 200,000～1 : 800,000 で90分処理すると本虫は死んでヒレから離脱するが，70分以内の処理時間で本虫の死は認められなかつた。本法を Bonneville 孵化場の Steel head trout 300,000 匹（ポンド当り900匹）に応じて本虫の駆除に成功している。(佐野)

人工餌料で飼育中のニジマスの肝臓，脂肪代謝障害について　K. A. FAKTOROBICH: *Trud. Soveschan. Fiziolog. Ryb*, 237～243 (1958).　低級な人工餌料で飼育されたニジマスの損失は肝臓の脂肪代謝障害による死因が大部分を占める。孵化後3ヶ月から人工餌料にかえられて肝の脂肪代謝障害を起している病魚と天然餌料で成育した健康魚を比較解剖すると，病魚の筋肉，消化管等は弾性を失い，内臓諸器官に脂肪が沈積し，特に肝臓は脂肪過多によつて黄色を呈するほか，赤血球数が 83,000 (健常値 1600,000) に低下し，未熟赤血球が 10% 強増加する。本病肝の組織像は可溶性および不溶性脂肪の沈積過多によつて大部分の肝細胞は破壊され，あるいは変性細胞となつてその構造は完全に乱され，生細胞は健常組織の 1/15～20 に達する。一方，病魚を良質な餌料に切り替えて飼育した場合の肝組織では可溶性および不溶性脂肪の量が漸次減少して健康な肝細胞の分裂像のいろいろな段階が認められる。この頃になると，喰細胞の活潑な捕喰によつて不溶性脂肪塊はさらに減少し，組織の所々に脂肪の存在の跡を示す空穴が観察され，肝組織は急激に再生しはじめる。再生来期に至ると，ごく些細な不溶性脂肪粒が血管の附近にのみ残り，組織構造は天然餌料で飼育された健康魚のものと何ら差異がない。このようにニジマスの肝脂肪変性後の再生には不溶性脂肪を組織から除くことと組織本来の再生がある。前者には不溶性脂肪を化学的に可溶性に移行して消化す

ること，喰細胞の積極的な捕喰によつて除くことの二つの過程がある。(佐野)

組織のフォスフォグルコムターゼ活力の測定法 O. BODANSKY: *J. Biol. Chem.* **232** (2), 859～866 (1958). 組織のフォスフォグルコムターゼ活力の測定法を案出した。肝臓を低温中で水 50～100 倍容とホモジナイズし，必要に応じてはさらに稀釈する。この酵素液 0.5 ml に 0.025 M グルコース-1-燐酸 K_2 塩 (pH 7.6 ± 0.05) 0.5 ml と pH 7.5 の 0.1 M トリスアミノメタン緩衝液 1.0 ml とその他 (賦活剤，コエンチーム等) 0.5 ml を加え，37°C で反応させる。反応液中の基質終濃度は 0.005 M であり，これは反応液 ml 当り 155γ の G-6-P 生成する量に相当する。Mg^{++}, L-システィンの影響を検討し，それぞれ 1.2×10^{-3}M, 8×10^{-3}M が最適であることが知られた。コエンチーム，すなわち α-グルコース-1, 6-ジ燐酸の濃度による反応速度の変化は，コエンチーム標品によつても異るので，最も良い条件を選ぶ必要がある。大体 $1\times10^{-6}\sim3\times10^{-6}$M が最適である。活力は 1 時間に肝臓（または組織）100 mg が G-1-P から G-6-P を生ぜしめただけの燐の mg 数で表わす。酵素液は 1.0～2.0 mg/ml 程度が望ましい。(永山)

脳の組織化学 V. グルコース代謝酵素 M. V. BUELL, O.H. LOWRY, N.R. ROBERTS, MEI-LING CHANG and J. I. KAPPHAHN: *J. Biol. Chem.*, **232** (2), 979～993 (1958). 神経機能に対するグルコースの重要性については，古くからいわれているが，ヘキゾースおよびヘキゾース燐酸に作用する 7 種の酵素を，脳の 10 部分について組織化学的に分布を測定した。試料は凍結乾燥し，その 1～2γ を用いた。ヘキゾキナーゼ，アルドラーゼおよびフォスフォリラーゼは小脳分子層に多く，フォスフォフラクトキナーゼは「アンモン」角の樹状突起層，フォスフォグルコムターゼは「アンモン」角の分子層，イソメラーゼは視神経索，グルコース-6-燐酸脱水素酵素は背柱(白質)にそれぞれ多く分布している。なお，フォスフォリラーゼは視神経索に少い。一般に細胞体層が，他の灰白質部に比し酵素量が少い。(永山)

燐酸の微量定量法 G.R. BARSLETT: *J. Biol. Chem.* **234** (3), 466～468 (1959). 微量の燐定量のために，Fiske-Subba Row 法を改良し，感度のきわめて鋭敏な方法を案出した。全燐酸定量の場合，試料液 2 ml に 10 N. H_2SO_4 0.5 ml を加え 150～160° 3 時間加熱，30% H_2O_2 2 滴を滴加し 1.5 時間加熱する。0.22% モリブデン酸アンモン 4.6 ml (または水 4.4 ml+5% モリブデン酸アンモン 0.2 ml) を加え，F-S 還元試薬 0.2 ml を混じ 7 分間沸騰浴中で加温し，発現した色を 830 mμ で測定する。無機正燐酸定量の場合，試料を水で 4.1 ml にし，10 N. H_2SO_4 0.5 ml, 5%モリブデン酸アンモン 0.2 ml, F-S 試薬 0.2 ml を加え，100° 7 分加温する。燐 1.5 μM まで発色度は直線的であつたが，実際は 0.15 μM までが望ましい。呈色が濃過ぎた場合は発色液を稀釈して測定して差支えない。0.1μM で 830 mμ の吸光度は 0.520 (1 cm) であり，常法 (660 mμ) の 7.2 倍に相当する。100°C 加温の時間は 5～20 分で発色度に変化がない。また発現した色は少なくとも 24 時間安定である。加熱により分解し易い燐酸化合物（アセチル燐酸，クレアチン燐酸など）共存する場合には正燐酸は常法（室温 7～10 分反応）によつて定量する必要である。しかし G-1-P, HDP などは加温反応法でもほとんど分解しない。(永山)

赤血球の解糖中間体 G.R. BARTLETT: *J. Biol. Chem.* **234** (3), 449～458 (1959). 血球を 10% TCA 2 倍容，5% TCA 2 倍容で抽出し，エーテルで脱脂して，抽出液 1 ml 当り 0.2 ml の Dowex 50×8 を通す。DPN 以外の燐酸化合物は吸着されずに流出し，鉄イオン，ヘム色素，アミノ酸，ペプチドなどが除かれる。流出液を Dowex 1×8 のカラムを通し，カラムを種々の濃度の HCl, NH_4Cl, 蟻酸，蟻酸アンモンなどの適当な溶剤で溶出し，紫外部吸光測定，種々の糖定量，燐酸定量を行ない，つぎのような解糖中間体の分析値を得た。すなわち，無機燐酸 0.28～0.48 (PμM/赤血球 ml); 弱酸性燐酸，0.20～0.33; ADP, 0.38～0.49; モノフォスフォグリセリン酸，0.05～0.08; グルコース-1,6-ジ燐酸，0.38～0.47; フラクトース-1,6-ジ燐酸，0.12～0.24; 2.3-ジフォスフォグリセリン酸，7.2～10.2; ATP, 2.7～3.7; AMP, 0.01～0.02; グルコース-6-燐酸，0.08～0.10; フラクトース-6-燐酸，0.01～0.02; リボース-5-燐酸，0.03; ケトース燐酸，0.03～0.04; TPN, 0.04～0.05. (永山)

結晶フォスフォリラーゼ b の特性 A.B. KENT, E.G. KREBS, and E.H. FISCHER: *J. Biol. Chem.* **232** (1), 549～558 (1958). 結晶調製の際の金属，ヌクレオチドの影響，および酵素蛋白中のピリドキサール-5-燐酸の存在について観察した。超遠心分離による観察によれば，沈降速度 $s_{20,w}=8.4\sim13.0$ で，フォスフォリラーゼ b は蛋白 1 分子当り AMP 2 分子が結合した蛋白単位の *dimer* として結晶するもののようである。種々の pH における吸光スペクトルの変化から，ピリドキサール-5-燐酸の存在が確認された。それはピリドキシルアミン誘導体の形で結合していると考えられる。蛋白濃度 1% の酵素液から結晶化する際，システィンが存在しないと結晶しない。システィン要求は 10^{-2}M であり，また Mg^{++} は 10^{-2}M, AMP は $10^{-4}\sim10^{-2}$M が必要である。そのほか Ca^{++}, Sr^{++}, Ba^{++}, Mn^{++}, Fe^{++}, Cu^{++} の各 10^{-2}M でも結晶した。AMP, ADP のほかに IMP, GMP, CMP, UMP などの 10^{-3}M で結晶が現われたが，標品の中に不純物として AMP が共存したためではないかと思われる。ATP, IDP, ITP, アデノシン，アデニン，イノシン，DPN, ヒ

ポキサンチンでは結晶が起らない。(永山)

グリコゲンとフォスフォリラーゼの結合 N. B. MADSEN and C. F. CORI: *J. Biol. Chem.* **233** (6), 1251~1256 (1958). グリコゲンとフォスフォリラーゼの結合を，超遠心分離法によつて観察した。酵素の分子量は 5×10^5, sweet corn から調製した植物性グリコゲンの平均分子量は 20×10^6 であり，相互の遠心分離は容易であつた。グリコゲンとともに沈澱した酵素はグリコゲンと結合したものと考えた。結合係数は Lineweaver-Burk plot から求め，酵素の *kinetics* から得られた Michaelis 恒数と比較した。植物性グリコゲンに対する k_m は 27 mg/100 *ml* で，肝臓グリコゲンに対しては 21 mg/100 *ml* であつた。結合係数は k_m の約 10 倍であつた。グルコース-1-燐酸，無機燐酸の存在はグリコゲンとフォスフォリラーゼとの結合にはなんらの影響を与えなかつた。20×10^6 の分子量のグリコゲン 1 分子は酵素 22~33 分子と結合することが算出される。これはグリコゲンの総末端基（グルコース）の 2 %が活性であることを示すものである。グリコゲンとフォスフォリラーゼの混合物は電子顕微鏡下で，それぞれ単独の場合より大きな像を与える（大きさ，密度とも）。グリコゲン分子の大きさが大きくなるにしたがつて，末端基（グルコース）が混み合つて，それ自身活性に制約的な構造をもたらすように考えられる。(永山)

ペーパークロマトグラム上の糖の定量 M. C. WILLSON: *Anal. Chem.*, **31** (7), 119~201 (1959). 従来ペーパークロマトグラフィーによる糖定量の一つとして PARTRIDGE のアニリンハイドロゲンフタレートの呈色試薬によつて生じた沪紙上の単一糖の呈色スポットをアルコール性塩酸で抽出し，比色分析による吸光度から定量の可能なことを提案しているが本法はさらに少量の試料中に存する各種糖の分別定量を試みている。すなわちブタノール，ピリジン，水 (6 : 4 : 3) の溶媒で展開分離した糖をアニリンハイドロゲンフタレートで一定条件の下で発色せしめ，その部分を切取つてアルコール性 0.7 N HCl で抽出し，アルドヘキソースとラムノースは 390 mμ, アルドペンソースは 360 mμ で吸光度を測定し，標準検量線から 10~125 γ の定量範囲内で糖含量を 2 %以内の変動係数をもつて測定できる。なお本法では発色強度の再現性やスポットからの成分抽出の諸条件が問題となり，これらについて抽出方法とその時間，糖の種類による呈色度の相違，溶媒や沪紙の選定，呈色試薬の処理法などの諸条件を検討している。実例としてタバコの木髄細胞膜の加水分解物中の糖を定量している。(平野(敏))

抗生物質処理により酵母の増加する原因 H. W. WALKER and J. C. AYRES: *Applied Microbiol.* **7** (4), 251~255 (1959). 一般に鶏肉に繁殖する微生物のうち酵母のしめる割合はそう大きくはない。ところが，CTC や OTC などの抗生物質で処理した鶏肉では処理しない肉に比べ酵母のしめる割合が大きくなることが報告されている。そこでこの現象がいかなる原因によるかを検討した。鶏肉から分離した酵母の種類は *Trichosporon, Torulopsis, Candida, Rhodotorula* などの 39 株であつた。これら菌株が抗生物質により生長が促進されるかどうかをまず検討したが，全く生長促進効果は認められず，また繁殖も阻害されなかつた (1~4 p. p. m. 濃度)。つぎに細菌との共存の影響を調べるために *Ps. fluorescens* を用いて検討した。共存の場合には酵母の繁殖は単独の場合にも比較して相当抑制される。これに抗生物質を加えると，細菌はほとんど繁殖が抑制され，酵母は単独の場合と全く同様な繁殖を示した。このような結果から，抗生物質処理により酵母がよく繁殖するのは，酵母の生長を阻害する細菌類が抗生物質により抑制されるので，酵母は正常な繁殖をするのであろうと思われる。(構関)

沪紙クロマトで展開した phosphate エステルの quinine sulphate による検出 EDWARD S. ROREM: *Nature* **183**, 1739~1740 (1959). 沪紙クロマトで展開した phosphate エステルの検出に従来 molybdate 法が用いられてきたが，これは過塩素酸を使用するため二，三難点があるので，これに代り quinine sulphate (**I**) による螢光法を考案した。展開した沪紙を乾燥後，0.5% **I**·$2H_2O$ 無水アルコール溶液に浸し，風乾してから 2537 A の紫外線を出す水銀燈の下で検出する。灰青色の地に明るい spot が見出される。本法による主な phosphate エステルの最小検出量はつぎの通りである。（単位 μgm. free acid) orthophosphate 0.7, pyrophosphate 0.7, phosphoglyceric adid 3, fructose-6-phosphate 4, fructose-1,6-diphosphate 3, galactose, および glucose-1-phosphate 4, uridine monophosphate 2, uridine diphosphate glucose 2, ATP 2. spot の検出後，沪紙を無水アルコールで洗い **I** を除いてから phosphate エステルを抽出することができる。**I** は糖やアミノ酸とも反応するが，前者は 40 μgm. 以下では検出されない。後者は数種のものが 15 μgm. 程度で検出されるが，ninhydrin によるアミノ酸の発色は **I** で阻害されないので同一沪紙上で phosphate エステルと区別することができる。沪紙は使用前に洗滌した方がよく，展開剤中の無機塩および三種塩化酢酸は spot の検出を阻害するが後者はアルコールなどの溶剤で除けばよい。(岡市)

放射線による乾性油の漂白 J. B. LAVIGNE: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **35** (3), 117~120 (1958). 乾性油に放射線を照射すると，色，乾燥性，I. V., M. W., 屈折率，粘度など多くの性質を変えるが，それらの中でとくに注目されているのは漂白作用である。著者は市販のサフラワー油，大豆油，アマニ油，トール油脂肪酸，オレイン酸を試料とし，これに Co 60, accerator などから得られた γ 線もしく

は加速電子などを用いて室温で，空気中または He 気流中で照射を行ない，漂白効果を吸収スペクトルの測定により追究した結果，サフラワー油では 455 mμ における吸光率の対数は照射量と比例的関係にあることを認め，これを利用して上記の試料につき，一定の漂白を生ずるに必要な照射量を決定し，さらに各試料の可視部スペクトルの最大吸収波長と，その照射に伴なう変化に考察を加えた。また O_2 の存在が照射による漂白作用を抑制することを認めたほか，サフラワー油について漂白の原価計算を行なつた。なお照射による漂白の機構としては，油の脱水素または脂肪酸の脱炭酸により生じた水素原子が色素の共軛二重結合を水素添加するためであろうという。(外山)

綿実油の水素添加に対する γ 線の影響　L. F. Albright, L. J. Harrison and A. Sesonske: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **35** (5), 240～244 (1958).　精製脱色した綿実油に Rufert 触媒フレーク (Ni 24.5%) を混合 (0%, 0.07%, 0.70%) し，その各 60 cc ずつを 1 in.×12 in. の Pyrex ガラス製反応槽(ニクロム線により温度を調節できる)に注入し，H_2 気流を 0.05 ft²/min の速度で吹き込んで水素添加を行なつた。その間における γ 線の影響を検討するために，反応槽を，そのまま 900 キュリーの Co 60 線源の中へ下げると反応槽内の照射線量率は 26500 r/hr. となるので，これによつて各試料の反応時間をそのまま照射時間として採用した。すべての場合，γ 線を照射した試料では，しないものに比べて水素添加速度が遅くなり，反応時間の増加に伴なつてその差が増大することを認めた。これは，γ 線によつて反応槽や H_2 ガスが変化するためではなく，triglyceride が照射によつて変化しカルボニルそのほかの分解生成物を生じ，それが Ni 触媒を食害するのだという。選択性や cis-trans 異性化は照射によつて影響されなかつた。(外山)

γ 線照射した豚脂から分離した揮発性カルボニル化合物の確認　L. A. Witting and B. S. Schweigert: *J. Am. Oil. Chemists' Soc.*, **35** (8), 413～416 (1958).　γ 線照射した肉の悪臭成分を追求する一分野として，肉の油脂が γ 線照射により形成する揮発性カルボニル化合物の確認をくわだてた。そのために，ヘキサンで抽出した豚脂を Co 60 により 10 megarad の γ 線を照射した後，揮発性カルボニル化合物を分離し，2,4-dinitrophenylhydrazon としてクロマトグラフにより分別し，定性的ならびに定量的に識別した結果，propional, pentanal, hexanal, nonanal, decanal, acrolein, crotonal および 2,4-undecadienal をペーパークロマトグラフおよび分光分析により確認した。また豚脂にアミノ酸を加えて照射を行ない，その添加量と照射量が生成するカルボニルの量に影響することを認めている。(外山)

高級脂肪酸および脂肪酸混合物の電位差滴定
Christien Sass: *Fette. Seifen. Anstrichmittel* **61** (2), 93～95 (1959).　脂肪酸の分別定量法としては減圧蒸溜，低温結晶，クロマトグラフなど色々の方法が知られているが，これらはいずれも迅速な定量には適さない。著者は短時間で脂肪酸を定量する目的でカプリン酸よりステアリン酸に至る数種の脂肪酸の硝酸銀による沈澱滴定を行ない電位差計により滴定曲線を求め，これより脂肪酸混合物中の成分脂肪酸の定量を試みた。定量誤差は単一脂肪酸の場合±1%，混合脂肪酸の場合±2～3%であつた。1 mV を正確に測定できる直示式ミリボルトメーターをそなえた電位差計を使用し，参照電極として飽和甘汞電極を用い，飽和硝酸カリをみたしたサイフォンをかいして指示電極の銀線と連絡する。脂肪酸 0.12～0.25 g を約 5 cc の 1,4-Dioxan にとかし 0.5 N-アルコール性苛性カリでフェノールフタレンで赤になるまで滴定し，蒸溜水を加え 250 cc となした溶液を少しく加熱した後 0.1 N-硝酸銀で滴定し，その電位差を測定する。脂肪酸の量は滴定曲線の変曲点に至るまでの cc 数より，混合脂肪酸の場合には単一脂肪酸の滴定曲線の交点に至る cc 数より計算する。定量に要する時間は脂肪酸の種類で多少異なるが，約1時間程度である。ただしオレイン酸のごとき不飽和酸はこの方法では検出されない。しかし混合物中の他の脂肪酸の定量値はその存在により影響されない。したがつてオレイン酸の含量は別に沃素価より計算して求める。(衣巻)

冷血脊椎動物のトロポミオシン　F. Saad, D. R. Kominz, and K. Laki: *J. Biol. Chem.* **234** (2), 551～555 (1959).　Bailey 法で得たヤツメウナギ，コイ，カエルのトロポミオシンの物理化学的性質，アミノ酸組成，C-末端基をしらべ，ウサギのトロポミオシンと比較した。それらは沈降速度 ($s_{20,w}$ = 3.1) からトロポミオシンAおよびBに似ている。アミノ酸組成をみると，いずれもリジン/アルギニン比は脊椎動物のトロポミオシンの性質 (114 : 42) を示している。また *net anionic charge* は pH 8 で 80～83 を示し，トロポミオシンBの特性を与える。ウサギにくらべ，カエルはセリンが少なく，バリン，メチオニン，チロシンが多い。コイはアスパラギン酸，グリシン，バリン，メチオニン，ロイシン，チロシン，フェニルアラニンが多く，セリンは少ない。またヤツメウナギはバリン，チロシン，リジンが多く，ロイシンが少ない。コイのグリシン，フェニルアラニンの多い点はむしろ軟体動物に近い傾向を示すものである。ロイシン，グリシンの含量はそれぞれ特異性を表わしている。トリプトファンは全く含まれない。C-末端基をカルボキシペプチダーゼによつて求めると，少なくともカエルはウサギと同様にイソロイシンおよびセリンを有すると思われる。(永山)

雑　　録

○ 9 月 理 事 会

1. **開催日**　昭和 34 年9月 18 日
2. **場　所**　東京水産大学会議室
3. **出席者**　田内会長，外 12 名
4. **議　事**

a. 海洋総合研究所設立運動についての経過報告

海洋学研究連絡委員栗田　晋氏より下記のとおりの報告があつた。

(i) 文部省国立大学研究所協議会，海洋総合研究所特別委員会関係

昭和 34 年6月9日，関係委員等 13 名出席の上，研究事項の説明が行われた。とくに，水産研究所の業務内容と表面上重複している点については，水研は水産行政上直接に必要な研究が重点となるに対し，海総研は学術的な基礎研究を重点とするので役割がことなることの説明がありこれを了承した。

6月 22 日，関係委員等 12 名出席の上，20 講座案が提出されたが，審議の結果 15 講座となる。その名称は海洋力学，同物理学，同化学，同生物学，同動物学，同植物学，プランクトン学，海洋細菌学，資源生物学，海洋地質学，同地形学，環境学，数量資源学，漁業測定学，測器学である。なお付置大学の第1候補は東大と決つた。

(ii) 海洋学研究連絡委員会，海洋総合研究所設立促進小委員会，および水産・海洋両学会設立促進実行委員会関係

7月6日，15 講座の設置順位の協議が行われ，1～7 位は海洋力学，同化学，同プランクトン学，資源生物学，海洋地質学，数理資源学，環境学（順不同）；14，15 位は海洋植物学，測器学ときまり，あとは日高委員長に一任した。

その後予算編成上の都合で昭和 35 年度予算には間に合わぬことがわかつた。

(iii) 日本学術会議・海洋学研究連絡委員会の4月以降の経過報告について。

b. 業界研究連絡準備委員会の経過報告

同委員長小野豊樹氏より経過報告があつた。

c. 対外関係

(i) 国立北京図書館（中国）から交換図書として受入れる書目は“海洋および湖沼”および“科学記録”(欧文版)，何れも 1959 年第1号よりと決定した(7–31)。

(ii) Fisheries Research Board of Canada, Biological Station, Translation Series 14 冊を第2回分として受贈した；TSNos. 178/184，190，191，195/197，207，208（表題略)。なお受贈申入先については本誌 24(9):786 を参照されたい (7–3)。

(iii) 本誌 25 巻1号からの交換開始は次の2件である。

a. Institute of Oceanography, Marine Biological Station（カイロ大学)，受入書目は Publications of the Marine Biological Station, No. 9 より (7–3)。

b. Central Fisheries Technological Research Station (Craft & Gear Wing)（インド)，受入書目は同所出版物，書名不詳 (7–27)。

(iv) 交換取消1件．Editions Maritimes との交換は先方から取消を希望（本誌 25(1) 参照）(7–23)。

d. 入会承認　個人　14 名　　団体　1.

○ 摘要と抄録について

国際標準機構(ISO)から日本工業標準調査会――文部省をとおして摘要と抄録の形式について照会がきま

した。その添付書類にこれらの定義，形式などが記載されていて一般の参考になることが多いと思われますのでここにその全文国際標準機構勧告第299号(案)，を飜訳して掲載します。

摘　要（Synopses）

1. 定義：摘要とは記事その他の作品［ここでは便宜上，論文と呼ぶ］の全内容の要約である。それはいつも論文とともにおかれるが，できれば本文中の結論的な要約と区別されるよう，表題と本文との間にあることが好ましい。その作成は著者自身によるか，またはその承認の下に行われる。

2. 目的，性格および内容：摘要はそれが附属している論文について目新しい観察結果や，そこからみちびかれた結論を指摘しつつ，その論文の本質的な主眼点を説明していなければならない。読者にとつては，それによつて確かに全文をよむに値するだけ内容が興味あるか，または重要であるかどうかを決めることができる。

3. 語法：摘要はそれが附属している論文をみなくても，それだけで内容が理解できるものでなければならない。できれば各章，節の見出しの単なるリストではなくて，完全な文章で書かれていることが好ましい。

3·1. 略語や省略は国際慣用で認められているもののほかは避けるべきである。特殊な記号は，もし使う必要があれば，本文で使われ，説明を与えられているものだけに限つて使うべきである。

3·2. 著者について述べるときは，どんな場合も三人称でなければならない。

4. 飜訳：原文で使われている言語が国際的な慣用国語でなく，しかも原文そのものに（全訳または抄訳の）訳文がつけられていないとしたら，少くとも慣用国語のうちの1ヶ国語で書かれた摘要の訳文をつけなければならない。

5. 抄録の主文としての摘要の使用：特定な場合，摘要で上記各項の要求にかなつているものは，文献上の引用をつけて抄録として使うことができる。

抄　録（Abstracts）

1. 定義：抄録とは論文の内容を簡単に表わしたもので，論文とは独立に印刷され，適切な文献上の引用（4項をみよ）がつけられたものである。論文に附属の著者が作成した摘要に拠つているものもあるが，ふつうは著者以外の人物によつて作成される。

2. 目的，性格および内容：抄録は原著について目新しい観察結果や，そこからみちびかれた結論を指摘しつつ，その原著の本質的な主眼点を説明していなければならない。それによつて読者は原著を参照する必要があるかどうかを決定することができる。とくに原著がすでに入手できなくなつている場合などには，原著の代りにできるくらい十分に行きとどいたものであつてもよい。

2·1. 例外を除けば，抄録はどこまでも客観的であるべきで，原文のおよその形，配分を尊重しなければならない。叙述の内容の範囲，記述法については，それが“簡単である”，“徹底的である”，あるいは“理論的である”，という表現をしてもよい。

2·2. もし特定な読者層に対して作成される場合，抄録はその読者層だけに関心をもたれそうな特定の主眼点だけをとりあげ，強調してもよい。

2·3. 評価あるいは批判は抄録の役目ではない。例外として，いわゆる評論的抄録（'Critical' abstract）があるが，これは事実上抄録の名をかりた評論である。もし原著論文についての批判的な文章が含まれているとしたら，この部分ははつきりと抄録の他の部分と区別しなければならない。

3. 語法：抄録は原著論文をみなくても，それだけで理解できるものでなければならない。できれば各章節の見出しの単なるリストではなくて，完全な文章で書かれていることが好ましい。挿図や表も転載されてよい。

3·1. 略語や省略は国際慣用で認められているもののほかは避けるべきである。特殊な記号は，もし使う必要があれば，その抄録誌で使われ，説明を与えられているものだけに限つて使うべきである。

3 2. 抄録文の最初の文章が表題のひきうつしであつては困るが，論文の主題が表題からではつきりしない場合は，その主題をそこで表わしていなければならない。

4. **文献学上の引用**：文献上の引用は抄録本文の前におかれるべきで，しかも国際標準機構勧告第 77 号，“文献学的引用法　必須要素”，および同上第 4 号，“定期刊行物誌名略記国際規約” の要求にかなつていなければならない。

5. **印刷面**：標準索引カードに貼付けられるよう，印刷面の幅は 103 ミリメートルをこえてはいけない。

（訳：高　木　和　徳）

○ 日本水産学会中国・四国支部 8 月例会　（於福山）

1. 魚肉の鮮度低下と細菌数……………………………………和田道唯・○浅川末三　（広大）
2. アサクサノリ Porphyra tenera K. 色素の基礎的研究…○片山輝久・藤山虎也・松本文夫　（広大）
3. 食品保蔵上よりみた香辛料揮発成分の化学的研究—IV. …………○片山輝久・永井　勇　（広大）
4. 海藻の揮発成分に関する化学的研究—XVIII. ………………………片　山　輝　久　（広大）
5. 藻海の揮発成分に関する化学的研究—XIX. …………………………片　山　輝　久　（広大）

理化学研究所学術講演会のお知らせ

1. **日　時**　12 月 1 日（火）～4 日（金）午前 9 時より
2. **場　所**　東京都千代田区神田一ツ橋の学士会館

主　催　理 化 学 研 究 所

生化学の関係では 12 月 1 日（火）午前 9 時より下記のような講演を予定しております。

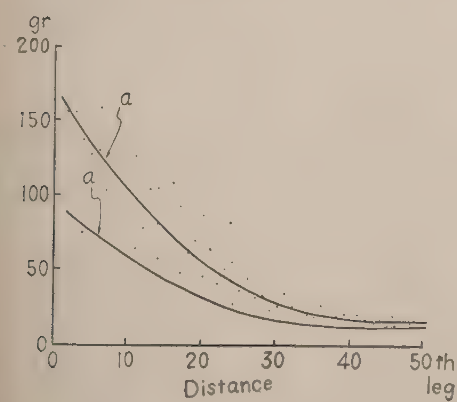
1. イカ肝臓よりのトリプトファン誘導体
2. イオン交換樹脂によるアミンの分離

正　誤　表

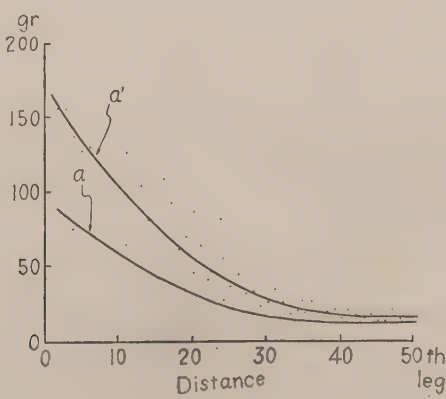
	誤	正
Vol. 25, No. 4. 頁 331　左，下から 14 行目	J. Am. Chemists' Soc.	J. Am. Oil Chemists' Soc.

Vol. 25, No. 5, 頁 349. 第 5 図

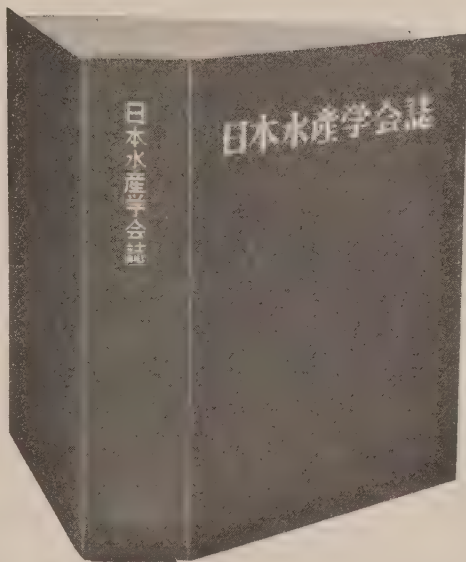
誤



正



会誌 論文集 合本用ファイル (B5判) 実費頒布御通知



水産学会誌1年分を簡単に製本出来る。

冊誌を傷めず保存できる。

穴をあけず，糊も使わず合本出来る。

中の何れでも取外しが簡易。

頒価 厚さ 4.5 cm		¥ 120
〃 6.0 cm		¥ 130
	〒	¥ 20

御希望の向は代金を添え日本水産学会事務局へ御申越下さい。

○学会所定原稿用紙価格 送料共 金 100 円

昭和三十四年十月二十日 印刷
昭和三十四年十月二十五日 発行

第二十五巻 第六号

本号定価 140 円
（送料別）

編集兼発行者 久保伊津男
東京都港区芝海岸通り6丁目 東京水産大学内

発行所 日本水産学会
東京都港区芝海岸通り6丁目 東京水産大学内
振替口座 東京 59529 番
電話 (45) 2200 番

印刷者 笠井康頼

印刷所 株式会社 国際文献印刷社

発売所 株式会社 国際文献印刷社
東京都新宿区山吹町184
電話 (34) 7446

鱗の輪紋の研究—III.
年令査定の基準*

安田秀明

(1959 年 2 月 2 日受理)

IMPLICATION OF THE SCALE RING—III. IMPROVEMENT OF AGE-DETERMINATION FOR FISHES

Hideaki YASUDA**

In judging the age of a fish, it has been customary to resort to the frequency of those rings among many individuals of the fish which are intuitively chosen as annual ring from the rings observed on the scale, the vertebra or otolith. Consequently, this has necessarily led to results not free from personal errors.

The author, now recording the frequency of any rings detectable at all on the scale for uniformly sized individuals of a fish to be examined, tries to estaflish a standard procedure for objectively estimating the age of the fish. By means of this new design it was revealed that with *Euthyopteroma virgatum* (H.) the chance of ring formation is provided in two seasons every year [while most individuals of this fish form (only two) rings per year.].

基準的方法の提案

あるところである時に漁獲された比較的少数の個体を試料として輪紋を判定しながら輪紋長を測り，鱗の長さと体長との関係を求め，これを利用して輪紋形成時の体長を計算する。この計算体長と輪紋の形成期によつて生長曲線を描き，産卵期を目安として年令を査定する。また鱗相と生長度とを比較すれば魚群の洄游系統を区別することもできる。

以上のようにして求めた天文年令と生長との関係は，選んだ個体そのものの生長を知るためよりも，その個体の属していた魚群体の平均の生長を知るための手がかりとして役立つ場合の方が多い。試料がその魚群体の代表として用いられるように選ばれた個体を取扱う場合でも，鱗を利用する限り先ずその個体についての標準的輪数を与えるような魚体の部位を選定してそこから採鱗する。サンマでは脊部と腹部とで輪数が異り，マイワシでは部位的には大差はなくても隣り合つた鱗間に輪数の差異がみられた。なお鱗の輪数が耳石や脊椎骨などの輪数と異るものもあるが，これは形質によつて輪紋形成の時期がずれることによるものと考えられる。

先にマイワシ[1]について各個体毎に一定数の鱗をとつてその輪紋長の頻度分布をしらべ，各輪紋の出現率の取扱いに際してはさらに個体数を考慮することによつて，年輪を現わすと見做し得るような輪紋の決定を行つた。マイワシのように最初に現われる輪紋が必ずしも孵化してから満 1 カ年後のものでない場合もあつた[2]。レンコダイ[3]では輪紋長の頻度分布を描いて，それぞれの山に相当する個体について輪紋長の範囲を定め，かく決定された輪紋長に応じて個体を分類しなおして得られた輪紋長別各個体につき輪数をしらべた結果では，第 1 年目と第 2 年目に鱗に現われる輪紋の数はともに 1～5 であるが，その平均値は大体 2 となつて 1 カ年に 2 つづつ現われることがわかつた。

従来は個体毎に各輪紋に内側から外側へ向つて順番数をつけ，各順番号の輪紋についての輪紋長の個体間平均値からその群の平均の生長や年令を査定していたが，そのような方法では年輪形成時期の異るものや，

* 昭和 26 年 5 月京都大会で発表した。

** 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish., 6-Shibakaigandori, Minato-ku, Tokyo).

年2輪づつを形成したものなどを経験的判断によつて除外する結果，取捨選択のしかた如何によつて個人差をまぬがれない。年令を査定する方法に個人差のない客観性を与えるためには次のような方法が適当と思われる。

鱗の生長の焦点から各輪紋までの距離（輪紋長と呼ぶ）をなるべく拡大鏡下に観察しながら多数の鱗について測定し近接した輪紋でも取捨選択することなく，すべてをもらさず記録する。こういうふうにして多数の個体について測つた輪紋長について，体長群別・漁具漁場別に輪紋長の頻度曲線を描き，先づそれぞれの山に相当する頻度数の合計を個体数で割つた値を求め，これを吟味することによつて1カ年に1輪づつであるか2輪づつであるかあるいはその混合であるかを判定する。それぞれの山の範囲について試料を再吟味すれば個体別にも年輪を定めることができる。この場合鱗に現われる輪紋とその附近の circuli 密度などの違いによつて輪紋を分類するが，これらの輪紋の配列に規則性のない場合にはこれを区別するにおよばない。

イトヨリについての検鱗結果の取扱い

イトヨリの鱗には線が不連続的に現われる不明瞭な輪紋と一連の線で現われる明瞭なものとがある。14.9倍拡大鏡下に検鱗し輪紋長の頻度分布表を作つてみると，最初の輪紋が現われる時の鱗長は瀬戸内海産のものでも，東支那海産の何れの体長群のものでも，4種のモードに分けられる。この各モードについての個体分布を Table 1 に示した。この表から，体長の大きいものの鱗の最も内側の輪紋はいくらか見おとしているものがあるように考えられるが，産地別には大差ないことが判つたので以下産地を区別せずに取扱う。全

Table 1. Individual distribution of the ring found innermost part.
—classified each mode.—

Locality	Body-length cm	Number of individuals	Interval of ring-length (×14.9mm)			
			20～37	38～46	47～55	56～76
East China sea	15～21	30	18	5	6	1
	22～30	75	17	33	22	3
	31～37	35	7	12	10	6
SETONAIKAI	22～35	31	11	14	5	1

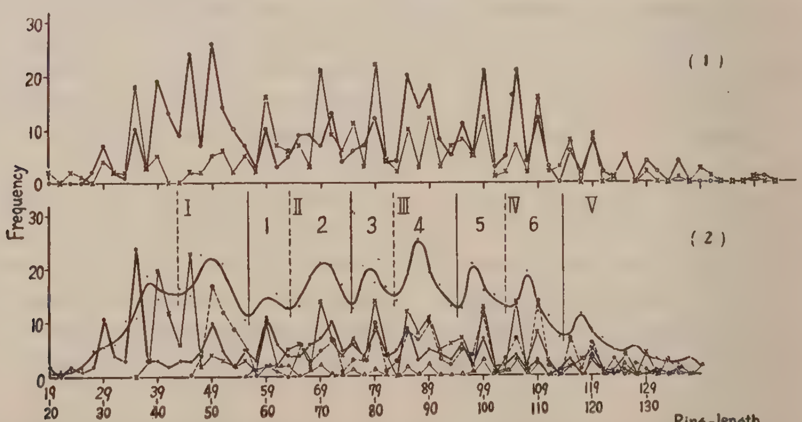


Fig. 1. Frequency distribution of the ring-length *Euthyopteroma virgatum* (H.)
○: clear ring, ×: unclear ring
Roman numerals are showing division; numerals, subdivision.
Division of 1st. ring: ● 20～37, × 38～47, ○ 48～56, △ 57～76.

試料について輪紋の明瞭なものと不明瞭なものとに分けたものの輪紋長（×14.9mm 単位，以下同じ）の頻度分布を Fig. 1 (1) に，第1輪紋のモード別輪紋長頻度分布を Fig. 1 (2) に示した。なお Fig. 1 (2) の曲線は全試料について3つづつの移動平均をとつて求めたものである。Fig. 1 (1) によると輪紋長 55 以下((1) 1 尾中 11 尾を除く）のところ（これを第1区分と呼ぶ）では輪紋の現われる鱗の位置によつて明瞭なものと不明瞭なものとの混ざり方に違いのあることが知られる。

輪紋長 55 以上のところでは頻度曲線の谷の位置を各の山に含まれる頻度数の和とそれぞれの個体数とを参照して，第 II 区分として 56〜64 (1) と 65〜75 (2)，第 III 区分として 76〜83 (3) と 84〜95 (4)，第 IV 区分として 96〜104 (5) と 105〜114 (6) とに分けた (Fig. 1 参照)。明瞭な輪紋の出現割合は第 I 区分では 72%，第 II 区分では 44%，第 III・IV・V+ 区分ではいずれもである。

輪紋長頻度曲線の第 II〜IV 区分に相当するそれぞれの2つづつの山（これを小区分と呼ぶ）について，小区分の第 1・3・5 の山に相当する時に輪紋を形成した個体は，第 2・4・6 の山に相当する時には輪紋を形成しない，小区分の奇数番目の山に相当する時に輪紋を形成しなかつた個体は，それぞれの偶数番目の山に相当する時に輪紋を形成するものと考えられる。

この点を確めるために鱗長によつて試料を次の3つの群に分けた。すなわち鱗長の範囲が 75〜94 にある個体については小区分の山 1・2，95〜113 の個体については山 3・4，114 以上の個体については 3・4 および 5・6 の山に分けて取扱つた。これらの山に相当する輪紋およびその前後の山に相当する輪紋との間で輪紋の分布状態を比較しかつそれぞれの場合の個体数（N）を附記した (Table 2)。いずれについても輪紋の分布状態はつぎの4種類に分けられる。いずれか一方の山だけに輪紋をもつものA（奇数番目の山に相当

Table 2. Relation between frequencies of number of rings (A·B·C·D type) and that of individuals (N).
Scale ring-length: ×14.9 mm
The Roman numerals and numerals are showing division and subdivision (Fig. 1), respectively.

Subdivision	Ring-length	A	B	C	D
	Scale-length 〔75〜94〕				
	〜55	8	17	17	4
II 1	56〜64	7	10	·	·
2	65〜75	·	13	13	·
	76〜	7	7	3	1
	N	7	12	10	2
	〔95〜113〕	A	B	C	D
	〜55	1 0 2 1	6 2 8 9	4 7 22 1	0 1 2 0
III 1	56〜64	1 0 · ·	5 1 · ·	4 5 · ·	0 1 · ·
2	65〜75	· 0 1 ·	· 1 7 ·	· 5 14 ·	· 1 2 ·
3	76〜83	1 0 1 1	5 1 6 7	· · · ·	· · · ·
4	84〜95	· · · ·	5 1 7 8	4 7 16 1	· · · ·
	96〜	1 0 1 1	2 1 3 5	4 1 7 1	0 1 3 0
	N	1 0 1 1	5 1 6 6	4 5 15 1	0 1 2 0
	〔114〜 〕				
	〜55	0 1 1 7	1 0 5 8	1 3 21 15	1 1 11 5
IV 1	56〜64	0 1 · ·	1 0 · ·	5 2 · ·	3 1 · ·
2	65〜75	0 1 1 0	0 0 4 0	0 2 20 0	0 1 14 ·
3	76〜83	0 1 1 7	1 0 5 5	· · · ·	· · · ·
4	84〜95	· · · ·	1 0 4 5	5 3 21 18	· · · ·
	N	0 1 1 7	1 0 4 5	5 2 20 15	3 1 13 5
IV 3	76〜 83	3 1 0 0	1 1 0 0	3 4 0 0	2 3 0 0
4	84〜 95	0 1 5 0	0 3 9 0	0 5 26 0	0 3 7 0
5	96〜104	4 1 5 4	1 2 8 6	· · · ·	· · · ·
6	105〜114	· · · ·	1 2 9 6	3 5 26 12	· · · ·
	115〜	2 0 2 6	0 1 6 3	3 0 21 9	4 5 7 5
	N	3 1 5 4	1 2 8 6	3 4 24 10	2 3 5 2

するもの）および C（偶数番目の山に相当するもの）と，両方の山にそれぞれ輪紋をもつものB，いずれのところにも輪紋をもたないものを D とした。Table 2 の鱗長 95 以上のものでは中心とする区分について輪紋の現われ方で A·B·C·D の 4 つに分けたものを前の区分との関係でさらに 4 つづつに分けてある（各欄とも左から右へ A·B·C·D)。なお $\text{Ⅲ}_{1,2}$ は第 Ⅲ 区分に相当する個体の小区分 1・2 の位置の輪紋の数，$\text{Ⅳ}_{1,2}$ と $\text{Ⅳ}_{3,4}$ は第 Ⅳ 区分に相当する個体の小区分 1・2 と 3・4 のそれぞれの位置の輪紋の数を示している。

Table 3. Classification of individuals into 4 types (A,B,C and D) owing to ring appearances.

Subdivision	Number of individuals (rings) Either (A) or (C)		Both sides	
	(A)	(C)	Find (B)	No find (D)
$\text{Ⅱ}_{1,2}$	7 (7)	12 (13)	10 (23)	2
$\text{Ⅲ}_{1,2}$	10 (10)	24 (24)	7 (14)	8
$\text{Ⅳ}_{1,2}$	9 (9)	38 (39)	4 (8)	32
$\text{Ⅲ}_{3,4}$	3 (3)	25 (28)	18 (40)	3
$\text{Ⅳ}_{3,4}$	9 (9)	42 (47)	10 (21)	22
$\text{Ⅳ}_{5,6}$	13 (14)	41 (46)	17 (35)	12
Total %	51 (13.5)	182 (48.0)	66 (17.5)	79 (21.0)

小区分 1〜4，3〜6 の相隣接した 4 つの山についての輪紋の現われ方を見るに，1 つおきに形成しているものといずれか 1 つだけのものとが比較的多いが，両者ともに 30% 以下であつて，個体により年によつて全くまちまちである。Table 2 から A·B·C·D 型に属するものを小区分毎に集計して Table 3 を得る（個体数に対して輪紋数が多くなつているところは小区分内に近接した 2 つの輪紋をもつものが含まれているためである)。Table 3 から輪紋数と個体数との比を求めると小区分の山 1・2 で 147: 163，3・4 で 148: 132，5・6 で 95: 83 となつて平均値では 1.03 となる。なお偶数番目の山に輪紋をもつものが 48%，奇数番目の山のものが 14%，両者ともにあるものが 18% 位であるが，この間輪紋をもたないものが 21% もある。

つぎに第 I 区分の輪紋の輪紋長別頻度分布を Table 4 に示した。輪紋数と個体数との比は $\text{Ⅱ}_{1,2}$ で 47: 29，$\text{Ⅲ}_{1,2}$ で 65: 49，$\text{Ⅳ}_{1,2}$ で 81: 74 となつて比の値は体長が大きいものほど小さい。これは Table 1 からも知られたことで，鱗の内側の輪紋が判定しにくくなることによるものとも考えられるが，Fig. 1 B の曲線では輪紋長の第 I 区分も第Ⅱ区分以下と同様 2 つの山に分たれる。最初の輪紋もそれ以後の輪紋と同様な時期に形成されたものと考えられる。

Table 4. Distribution of number of rings on the I division refer to ring-type of subdivision 1, 2.

Ring / subdivision		$\text{Ⅱ}_{1,2}$				$\text{Ⅲ}_{1,2}$				$\text{Ⅳ}_{1,2}$			
type		A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
Number of individuals (no find)		7 (2)	10 (0)	12 (0)	2 (0)	10 (0)	7 (0)	24 (0)	8 (0)	9 (6)	4 (0)	38 (3)	32 (0)
Ring-length (×14.9mm)	55〜45	4	4	13	2	4	2	15	6	0	2	25	24
	44〜34	6	8	7	1	5	4	14	5	3	3	11	11
	33〜	0	0	1	1	2	6	2	0	0	0	2	0

体長と鱗長との関係は 1 つの直線で表わされるものとみられるので，体長 3.0cm で鱗が発生したものと見做し，i 番目の輪紋長を r_i，その時の体長を $l_{i\,\text{cm}}$ として $l_i = 0.21_4 r_i + 3.0$ から体長を求めた（輪紋長頻度曲線の山の附近の 3 つづつの平均値を r_i とした)。

Table 5. Number of individuals.

Month	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
New-ring	0	3	8	5	—	0	0	1	—	2	28
Total	12	60	37	45	—	7	20	20	-	20	97

イトヨリの鱗に新しい輪紋の現われる時期は Table 5 から 3〜5 月と 12 月頃との年 2 回ある

ものと判断される。輪紋形成期が4月と12月で産卵期が7〜9月であるから最初の輪紋は12月に形成されたものとする。したがつて横軸に12カ月をとり縦軸に体長をとつて12月と4月における計算体長と，いろいろな時期の体長組成のモード*との間の関係を図示すれば Fig. 2 を得る。実線はこれらの点をぬつて描いた生長曲線である。生長曲線から産卵期における天文年令で満1〜6才魚の体長はそれぞれ $15._5$, $19._5$, $23._5$, $27._5$, $31._0$, $34._5$ cm 位と推定される。

豊後水道と九州西岸産のイトヨリの産卵期は東支那海産のものに比べていくらか早いようにも見られるが全体としてはいずれも計算体長の結果とよく一致している。横田[4]はイトヨリの鱗の輪紋を週期性(等時隔)のものと非週期性のものとに区別し，週期性のものの第1輪紋の大きさによつてさらに2つの群に分け，それぞれの発生地の違いによるものとした。輪紋が形成した時の体長をそれぞれ 9, 16, 21, 25, 28cm と 6, 10, 16, 21, 25cm とした。この計算体長の結果は著者が奇数番目の輪紋（12月頃形成）から求めたものと大体は一致している。Fig. 1 の区分 I〜IV はそれぞれ1カ年未満，1カ年以上2カ年未満，‥‥3カ年以上4カ年未満のものの範囲を示し，小区分 1〜6 は1カ年に2回（3〜5月と12月）づつある輪紋形成期によつて分けられた輪紋長の範囲を表わしている。

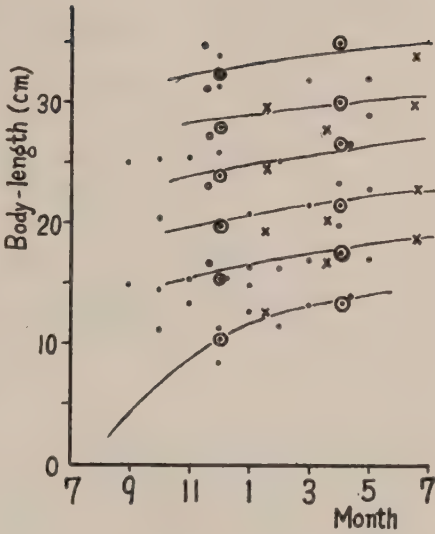


Fig. 2. *Euthyopteroma virgatum* (H.) Showing relationship between month and body-length; ⊙ calculated, × Mode of scale-reading material, ● Mode of composition.

徳島産イトヨリの肥満度は12月から1月にかけて増加し始め 4, 5 月に増加率が最大となり，11, 12 月頃まで増加して後急に減少する。1カ年に2回ある輪紋形成期の 12 月は肥満度が最大値から最小値へ急に変わる時に対応しているが，4月頃のものは生殖腺の増大する時期に対応しているもののように考えられる。

結　　　び

魚類の年令を査定するには輪紋形成体に現われているいずれか適当と思われる輪紋を年輪として選ぶという在来のやり方に代えて，読取り得るすべての輪紋の輪紋長を測定し，その結果をもとにして輪紋長なり，比輪紋長なりの頻度曲線を吟味する方が客観的に年令を定め得るということを明かにした。

本文を草するに当つて御指導下さつた田内森三郎先生，御助言下さつた平野弘先生，測定に御助力下さつた加藤孝・最首光三・水野武雄の三氏に感謝します。

文　　　献

1) 安田秀明・小倉道男: 日本産主要魚類の成長ーI　マイワシ，本誌，**16** (6), 1950.
2) ―――: 鱗の輪紋の研究ーII　輪紋の形成，本誌，**25** (2), 1959.
3) ―――: 日本産主要魚類の成長ーIII　レンコダイ，本誌，**16** (6), 1950.
4) 横田滝雄: 底魚類の生長について，年令および年級組成，南海区水産研究所報告 No. 3, 1956.

* 東支那海魚体測定要報，南海区水産研究所報告 (No. 3) などによる。

ノリ糸状体の生長—II.

いわゆる"サメ肌"について

尾 形 英 二

(1959 年 7 月 13 日受理)

STUDIES ON THE GROWTH OF *CONCHOCELIS*—II. ROUGH TOUCH APPEARANCE ON THE SURFACE OF SHELL IN WHICH THE FILAMENTS THRIVE

Eizi OGATA*

It is frequently observed that the rough touch appearance develop on the surface of shell in which the filaments thrive during the long cultivation of *Conchocelis*. This phenomenon is called often "Samehada (Goose-skin-like) disease". Results observed are summarized as follows: 1. The profile view of rough touch surface shows that such portion of surface consists of numerous hemispheric projections having cocentric circle lines in section (Plate I, A∼H). 2. These projections are supposed to be composed of some calcium salt. 3. It seems that filaments-like passages pierce these projections and have outlets on those surfaces (Plate I, A∼H). 4. No remarkable difference is observed between both rough surfaces of oyster shell (Plate I, G·H) and of pearl oyster shell (Plate I, A∼F) in structure. 5. Crystals of some calcium salt are also deposited on the bottom of culture vessel during long cultivation (Plate II, A·B).

ノリ糸状体を培養中に，しばしば"サメ肌"とよばれる現象がおこる。これは培養日数が相当経過して，糸状体が密に生長した貝殻の面に微小な突起が一面に生ずる現象をいう。このような突起は，糸状体が濃密に生長して，貝殻面の糸状体斑の色が濃くなつたものに多くみられ，次第にザラザラとした感触を示すようになる。一部では"サメ肌病"とよばれているようである。

筆者は昨年末以来，糸状体を培養してその垂直的生長の観察を続けているが，この培養中にもやはり"サメ肌病"状の症状が生じたので，それについて観察を行ない，その結果に対していろいろ考察をした。

材料および方法

貝殻上にできた突起物をくわしく知るために，前報[1) 2)]同様の方法で問題の部分を切断して，その断面を作つて顕微鏡観察した。サンプリングは，前報からひきつづいた *Porphyra tenera* 糸状体の培養シリーズ中（昭和 33 年 12 月 6 日，12 月 18 日，アコヤ貝に播種）から，比較的サメ肌状のひどいものをえらんで行なつた。

結　　果

貝殻面に突起があきらかにみとめられはじめたのは，培養日数 100 日目のサンプルからである。100 日目の貝殻の突起の多い部分をえらんで断面を作り観察すると，あきらかにサメ肌状突起の切断面がみとめられる。これからみると，この突起は比較的ととのつた半球状である (Plate I, A·B)。これらはタネをまいた側の内面だけでなく，貝の殻皮側にも生じている (Plate I, B)。これらの突起と突起との間隔はまちまちであ

* 農林省水産講習所 (Shimonoseki Coll. Fish.).

るが，培養期間が 130 日 (Plate I, C·D)，150 日 (Plate I, E·F) とながくなるにつれて，互に隣接して多発するようになる。そして互に融合してかたまりを作つているところも生じてくる (Plate I, D·E)。中には基部面積の非常に大きい高原状の突出もみられる (Plate I, F)。

ほぼ半球状をした突起の基部の直径は，100 日目のもので 100〜150μ に達する。150 日を経過したものでは 200μ 以上に達している (Plate I, E)。興味深いのは，これらの突起中に多かれ少なかれ糸状体の延長のようにみえる構造が存在していて突起の上面に達していることである。形は比較的簡単で真直なものからたがいにからみあつて複雑になつたものまで，いろいろである。

この糸状体状の構造は，ほとんどの突起部にみられるが，中には存在していないようにみえる突起もある。なお，プレパラートをよく観察すると，突起部の断面には同心円状のリングがはつきりとみとめられる (Plate I, C)。

このリングと糸状体様構造の存在は，貝殻面にある糸状体の末端を中心として，突起がだんだんと生長しそれにつれて糸状体も延長して行き，ちょうど噴火山の発達のような経過で突出部がつくられたことを想像させる。

一方，1958 年の 1 月に播種してから培養をつづけていたカキガラにもこのような突起が多くできていた。すなわち “サメ肌病” にかかつていたわけであるが，別に表面のザラザラ以外に異常なく生存していた。このカキガラのサメ肌部分の断面を同様にして観察すると，アコヤ貝の場合と少しも変らない構造がみられた (Plate I, G·H)。すなわち，半球状の突出部の中を貫通する糸状体様の構造も，同心円状のリングもみられる (Plate I, G)。

つまり，貝殻の表面にあらわれる突出は，アコヤ貝とカキガラの両方の場合をくらべてみて，形態的には本質的な差がないといえよう。

貝殻上だけでなく，器底にもザラザラした白色の沈着物がみられることがある。とくに，長い間ノリ糸状体を培養したガラスバットの底などにこれができていることを後になつて知ることが多い。この実験では，培養後 130 日位で気がついた。ガラス上にできたこのような沈着物を顕微鏡観察すると，小さな棘状の結晶が金平糖状に集合したようになつてなつていることがわかる (Plate II, A)。 これらの小さな結晶が集まつて大きくなり，半球状になつたと思われるものもある (Plate II, B)。

考　　　察

上述の形態観察から推すと，いわゆる “サメ肌” の成因はつぎのように考えられる。すなわち，糸状体が貝殻の表面直下の層で濃密に分布して代謝が旺盛になると，最初に果胞子からの発芽体が穿孔した場所，または後になつて糸状体が貝殻面に達して外界と連絡したと思われる場所等からカルシウムが分泌され，その近辺でただちに飽和析出する。そしてそれらの周囲に沈着しながら，次第に大きさをまして “サメ肌” になるとも思われる。突起部の中に，糸状体様の構造と同心円状リングのできる現象は，上のように考えれば無理なく説明できる。

この糸状体から分泌されて析出沈着する物質は，貝殻上の突出部ばかりを削りとつたものや器底上の析出物が，酸によつて容易にとけることからカルシウムが主成分と考えられる。

サメ肌の成因を生理的に推論するとつぎのようである。糸状体が貝殻中で生長するためには，基物である炭酸カルシウムを糸状体の生長先端が溶解して穿孔しなければならない。炭酸カルシウムが溶解するとカルシウムと炭酸の形に分れるが，この両者は大部分が何等かの形で糸状体内を通過して，海水中に排出されるものと考えられる。糸状体中をイオンあるいは化合物の形で通過して体外に分泌されたカルシウムが，析出して再び固体の化合物になつたもの，これがサメ肌と考えられる。生長が旺盛で代謝が活潑なときほど，糸状体中のカルシウム濃度が高まるであろうから，“サメ肌” になりやすいと思われる。

器底の析出物は，分泌されるカルシウム分の量が多くて貝殻面の分泌口の周囲に沈着するより先に拡散して，貝殻表面からはなれた器底で析出したものと考えられる。

以上の考案からもあきらかなように，いわゆる“サメ肌”の現象は，従来一部で考えられたような病的なものとは考え難い。生育密度が大で代謝が盛であれば，基物である炭酸カルシウムの分解が盛であり，したがつてカルシウム分があまつてくることは容易に考えられる。ただ，燐酸塩を加えて培養したものは，あまり“サメ肌”にならないといわれている(山口県内海水試・前川氏談) から，やや代謝のバランスがとれていない結果とも考えられる。また多くの突起部には，糸状体の延長と思われる構造があつて，表面に達しているようにみえるが，これが事実ならガス代謝や塩類の拡散には大して支障がないと思われる。

摘　　要

1. 糸状体を培養中の貝殻の表面には，しばしば“サメ肌”とよばれる現象が生ずる。
2. この“サメ肌”状突起の断面をみると，同心円状層のある半球状の突起である。
3. 突起部の中にはしばしば糸状体様の構造があり，その表面に達しているようにみえる。
4. 長期培養によつて，糸状体が下面（すなわち殻皮）に達したものでは，両面にこの突起が生じているものもある。
5. カキガラとアコヤ貝とでは，生じたサメ肌に本質的な差がみとめられない。
6. 貝殻上のみでなく，培養器底にも析出物が生ずる。
7. “サメ肌”状突起やガラス上の析出物は，カルシウムが主成分であると考えられる。

この研究に対していろいろ示唆して頂き，また論文をみて下さつた九大瀬川博士，終始激励頂いた京大米田博士に厚く御礼申し上げる。

文　　献

1) Ogata, E.: *Bot. Mag. Tokyo*, **72**, 177 (1959).
2) 尾形英二: 本誌，**25**，356 (1959).

Explanations of Plates

Plate I, A〜F: Profile views of projections appeared on the surfaces of pearl oyster shells. All × 200.

A: Projections produced on shell surface during 100 days cultivation. B: Projections on prismatic layer (100 days). C·D: Concentric layers are shown (130 days). E·F: Giant projections in which passage-like structures are present (150 days). G·H: Same projections on the surfaces of oyster shells (ca 1 year cultured). × 160.

Plate II, Crystals deposited on glass bottom of culture vessel. × 200.

A: Small stage. B: Large stage.

Plate I. Profile features of rough touch surface of shells with the *Conchocelis* filaments.

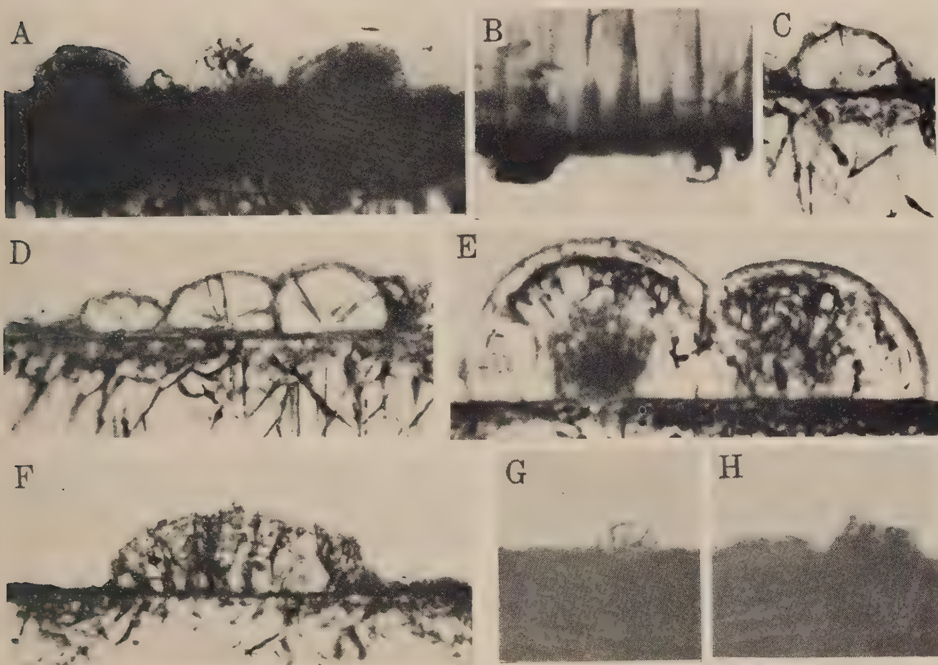
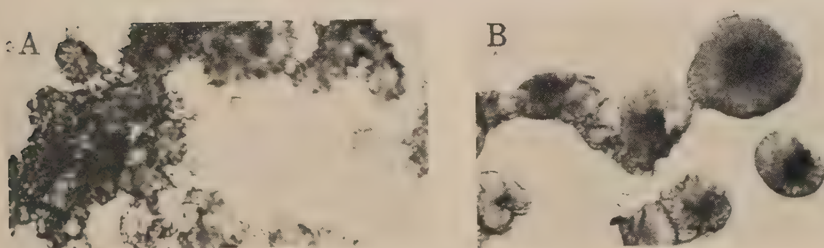


Plate II. Deposited crystals on the bottom of culture vessel.



千葉県大原，片貝を根拠とするイワシあぐり網漁業の比較
(漁港の有無の影響について)

井　上　実

(1959 年 9 月 21 日受理)

THE COMPARISON OF SARDINE PURSE SEINE FISHERY BETWEEN AT ŌHARA AND KATAGAI IN CHIBA PREFECTURE
(SIGNIFICANCE OF FISHERY HARBOUR REFLECTED IN THE ATTAINMENT OF SARDINE PURSE SEINE FISHERY)

Makoto Inoue*

Ōhara and Katagai are famous as the bases for sardine purse seine fishery on the east coast of Chiba prefecture, but they are mutually different in that while the former is favoured by the facility of fishing harbour, the latter is not so because of the shallowness of the adjacent water up to a great distance away from the shore.

This report exermienes as to whether there can be found any difference in fishery achivement which has arisen certainly from the presence or absence of available fishing harbour, on the basis of the data supplied by the fishery associations of Ōhara and Katagai.

1) The fishing fleet from Ōhara is able to go fishing about 3 days more per month than the fleet of Katagai and this may be accounted for by the fact that Ōhara only is furnished with fishing harbour.

2) From 1955 to 1957, the catch per day attained by Ōhara fleet continued to be far greater than that attained by Katagai fleet. This may be due to that the tonnage of seine boats and the size of nets, which depend naturally on the presence or absence of fishing harbour, were larger as shown in Table 1, in the case of Ōhara fleet as compared with Katagai fleet.

現在，千葉県東海岸における大原では漁港を有し，片貝では遠浅海岸のため漁港の施設はない。したがつて両根拠地におけるイワシあぐり網漁業において，漁港施設の有無による漁業上の得失が考えられるので，本研究ではこの点につき調査した。

§. 資　料

資料としては大原，片貝両漁業協同組合の調査した漁獲量を用いた。調査期間は2期に分け，前期を昭和 27 年 11 月より同 28 年 4 月まで，後期を昭和 30 年 1 月より同 32 年 5 月までとした。前期における調査船数は大原で9隻，片貝で7隻であるが，後期では大原で7隻，片貝で6隻となつた。また，Table 1 に示される両根拠地の各船の装備，漁具の状況は筆者の聞取り調査によるものである。これによれば漁船の屯数はやや大原の方が大きいが，これは片貝では船の揚げ降しには大きい船では不便であるからであろう。

* 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish., 6–Shiba Kaigandori, Minato-ku, Tokyo).

Table 1. Tonnage of seine boats and size of nets.

I. Ōhara

Period of investigation	Name of boat	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Nov., 1952 ~May, '58	Tonnage	25.5 ton	25.4	25.4	19.9	26.5	23.5	15.5	25.5	27.1
	Horse power	70HP	70	70	70	80	65	60	90	80
	Length of cork line	135 ken	125	130	128	120	128	130	135	130
Jan., 1955 ~June, '57	Tonnage	25.5 ton	25.4	26.4	26.0	29.7	29.7		27.0	
	Horse power	70HP	70	80	80	160	140		65	
	Length of cork line	175 ken	170	165	175	175	175		167	

II. Katagai

Period of investigation	Name of boat	J	K	L	M	N	O	P
Nov., 1952 ~May, '58	Tonnage	19.7 ton	19.7	19.7	19.6	19.2	18.0	19.5
	Horse power	50HP	45	50	55	50	40	50
	Length of cork line	135 ken	130	132	128	128	133	132
Jan., 1955 ~June, '57	Tonnage	19.7 ton	19.7	19.7	19.6	19.2		19.5
	Horse power	65HP	65	55	65	60		60
	Length of cork line	150 ken	150	130	167	140		150



Fig. 1. Position of fishing bases in Chiba Prefecture.
Remarks;
○: Fishing base
△: Meteorological station

なお両根拠地の位置は Fig. 1 に示される。

§. 大原船と片貝船との出漁日数の比較

両根拠地で1漁船でも出漁した日を出漁日として計上し，大原船と片貝船との出漁日数を月別に比較すると Table 2 のように大半の月は大原船の方が多く，少ない月では1日，多い月では9日の差があり，平均では月当り2.9日の差がある。漁船の休漁の原因としては，漁船，漁具または乗組員の事故や，天候，漁況の影響，さらに各種の行事による場合等が挙げられるが，各船同時に漁船，漁具，乗組員の事故が発生することは考えられず，片貝，大原では根拠地が接近しているから，天候，漁況の影響は同時に蒙るであろうし行事による休漁も稀であるから，大原と片貝との出漁日数との差は漁港の有無がかなり影響しているものと考えてよいであろう。

例えば，九十九里浜は前面に風を遮ぎるものがないから，海上からの風の強いときは，波は直接海岸に砕け，船の揚げ降しにきわめて不便となるが，大原の方は漁港があるため船の出入に風波の影響は少ない。このような見地から風速，風向と出漁日との関係を調べるとつぎのようになる。

調査期間中の午前6時と9時の風向，風力を両根拠地に比較的近い勝浦測候所の資料により調べてみると，N~E~S の風向（海上からの風）の際，片貝船が出漁したのは最大風速 NNE 2.6 m/sec, SSE 1.7 m/sec

Table 2. Number of fishing days of Katagai and Ōhara fleets.

Month	'52 Nov.	Dec.	'53 Jan.	Feb.	Mar.	Apr.	'55 Jan.	Feb.	Mar.	Apr.	May	Nov.	Dec.
Katagai	10	22	13	10	6	11	14	9	11	13	17	15	20
Ōhara	9	24	13	12	8	12	18	14	16	15	16	12	23

Month	'56 Jan.	Feb.	Apr.	May	Nov.	Dec.	'57 Jan.	Feb.	Mar.	Apr.	May	Average
Katagai	9	2	9	9	11	20	14	6	13	12	3	11.6
Ōhara	11	6	15	16	14	29	18	8	19	14	7	14.5

で，大原船の出漁した最大風速は NNE 5.4 m/sec, SSE 3.4 m/sec で，片貝船は海上からの風が強く吹く日は休漁が多い。これに対し，N～W～S の風向（陸上からの風）の際は相当風が強くとも出漁ができ，片貝船では最大風速 13.8 m/sec，大原船では 14.3 m/sec でも出漁している。冬季には N～W の風が多いが，N～W 方向の風速と出漁との関係を調べると Table 3 のように，片貝船，大原船とも出漁した日と大原船のみが出漁した日との平均風速には余り差がみられない。これから考えると大原と片貝とで差が出るのは，海上からの風（N～E～S）が強く吹く日に限られるようであるが，実際には朝方風が強く吹いても次第に弱まることもあり，片貝では大漁を予想される場合以外は午後から出漁することは少ないが，大原では船の揚げ降しに便利なため午後からでも出漁するので，ここで用いた気象上の資料のみでは判断し難い場合が多い。

Table 3. Average velocities of wind (from N to W) when Ōhara and Katagai fleets were fishing.

		'52 Nov.	Dec.	'53 Jan.	Feb.	May	Apr.	'56 Dec.	'57 Jan.	Feb.	Mar.	Apr.
Average velocities of the days when Ōhara and Katagai fleets were both fishing	A. M. 6	cm/sec 5.3	4.7	5.3	4.0	5.4	3.7	4.8	5.8	4.8	4.1	4.8
	A. M. 9	cm/sec 4.4	4.5	5.5	4.8	3.9	3.9	6.6	5.8	5.7	4.3	6.2
Average velocities of the days when Ōhara fleet was only fishing	A. M. 6	cm/sec 6.6	4.6	5.5	7.9	4.6	7.8	6.3	7.7	5.9	5.1	4.1
	A. M. 9	cm/sec 5.2	5.7	5.5	8.6	6.6	7.1	5.7	5.8	6.1	3.7	4.5

§. 大原船と片貝船との漁獲量の比較

大原船と片貝船との漁獲量を比較した結果，両者に差があるとすれば，その差は漁港の有無に基づくものか，漁船の漁獲性能の違いによるものか検討しなければならない。したがつて，まず，両根拠地の漁船の漁

Table 4. Relative values of catch per one day from Nov., 1952 to Apr., 1953.

	Ōhara fleet									Katagai fleet							Mean of relative value		
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Ōhara	Katagai	Ōhara (except G)
1952 Nov.	1.06	.42	1.05	.60	.85	1.28		1.50	1.73	1.32	.83	.98	1.14	.78	.75	.71	1.07	.93	1.07
Dec.	1.19	.94	1.02	.64	.83	.84	.50	1.14	.90	1.30	1.16	1.19	1.09	1.09	.99	1.18	.88	1.12	.94
'53 Jan.	1.92	.66	.91	.88	.90	1.00	.50	1.30	.95	1.08	1.10	1.14	1.15	.87	.84	.80	1.00	1.00	1.06
Feb.	1.00		1.00	.92	1.46		.35	1.38	1.07	1.10	1.08	1.06	.96	.97	.80	.62	1.02	.98	1.14
Mar.	1.16	1.09	.90	.70	1.09	.66	.57	1.48	1.42	1.33	.98	1.02	.76	.96	1.26	1.07	1.01	.99	1.06
May	1.02		1.09	.69	1.24	.62		.94	.80	.90	1.65	.98	1.16	.78	1.06	.70	.91	1.09	.91

獲性能を比較したが，漁獲性能の比較は日別の漁獲量，投網1回当り漁獲量，投網回数を用い，それぞれの指数を計算し，それらの指数により，両根拠地間の漁船の漁獲性能の比較を行つた。Table 4〜5 は調査前期，Table 6 は後期の結果である。この際，大原と片貝の漁船は周年ほとんど同じ漁場で操業されるとみてよいので両根拠地の船を一纏めにして計算した。調査前期における大原，片貝両漁船間のそれぞれの指数の平均値の差は僅少であり，*t*-検定により調べてみても，日別の漁獲量，投網1回当り漁獲量，投網回数の指数ともに有意の差は認められず，したがつて日別漁獲量にも差はなく (Table 7)，この結果から考え，前期においては大原，片貝の漁船では漁獲性能に大きい違いはないとみてよい。この際，大原のG船は屯数が小さいので，大原の平均から除いても検定の結果には違いはなかつた。

Table 5. Relative value of catch per one pursing and number of pursing from Nov., '52 to Apr., '53.

Fleet	Mean of relative value					
	Catch per one pursing			Number of one pursing		
	Ōhara	Katagai	Ōhara (except G)	Ōhara	Katagai	Ōhara (except G)
1952 Nov.	1.00	1.00	1.00	1.06	.94	1.06
Dec.	.82	1.18	.86	1.02	.98	1.05
'53 Jan.	.92	1.08	.96	1.12	.86	1.14
Feb.	.92	1.08	.96	1.00	1.00	1.05
Mar.	.97	1.03	.99	1.10	.88	1.12
May	1.04	.96	1.04	1.03	.97	1.03

Table 6. Relative value of catch per day from Jan., '55 to May, '57.

	1955 Jan. ～Feb.	Mar. ～May	June	Nov.	Dec.	'56 Nov.	Dec.	'57 Jan.	Feb. ～Mar.	May ～June
Ōhara	1.20	1.16	1.15	.93	1.06	1.03	1.21	1.04	1.29	1.05
Katagai	.76	.81	.82	1.08	.93	.97	.79	.96	.71	.95

Table 7. Catches one boat and one day of Ōhara and Katagai fleets in the period Nov., '52 to Apr., '53.

	1952 Nov.	Dec.	'53 Jan.	Feb.	Mar.	May	Mean
Ōhara	650 kan	1,600	3,220	2,360	2,140	1,690	1,940
Katagai	930 kan	2,020	2,420	2,700	1,720	1,640	1,900

ところが，後期では両根拠地間にはほつきりと漁獲上に差が表われている。すなわち，Table 8 の日別漁獲量の指数の平均値を *t*-検定で検定した結果，その差は有意となり，このことは1日1隻当り漁獲量についても同様である。このように調査前期と後期とで結果に相違が生ずる原因としてつぎのように考えた。

Table 1 の漁船，漁具の状態をみれば，前期においては両根拠地間に余り差はみられないが，後期には大原船の網の大きさの増大の割合は片貝船にくらべ大きい。また，大原船は船の屯数も機関の馬力も増加したのに対し，片貝船は船を新造しても港がないため，大型になると船の揚げ降しに支障をきたすので，したがつて網も余り大きくされない。しかし前期にくらべ網は多少大き目になつているのは，合成繊維網に切換えたため，積載力や労働力に余裕を生じたためであろう。

Table 8. Catches by Ōhara and Katagai fleets from Jan., '55 to May, '57.

		1955 Jan.	Feb.	Mar.	May	June	Nov.	Dec.
Catch per one boat and month	Ōhara	94.2(1000kan)	80.0	70.0	49.7	66.8	16.6	134.6
	Katagai	32.2(1000kan)	24.5	27.1	30.8	44.0	17.0	58.6
Catch per one boat and day	Ōhara	5,240 kan	4,700	4,360	3,320	4,170	1,380	5,870
	Katagai	2,300 kan	2,720	2,460	2,200	2,590	1,130	4,880

		1956 Nov.	Dec.	'57 Jan.	Feb.	Mar.	May	June	Mean
Catch per one boat and month	Ōhara	19.3(1000kan)	170.0	63.2	37.8	44.1	53.7	10.4	65.0
	Katagai	12.4(1000kan)	106.0	27.3	5.6	23.5	39.6	3.8	32.3
Catch per one boat and day	Ōhara	1,200 kan	7,200	3,520	2,100	2,320	3,840	1,490	3,630
	Katagai	1,250 kan	5,300	1,950	940	1,810	2,460	1,290	2,300

まき網においては，漁船の屯数や網の大きさによつて漁獲量に差を生ずることは考えられる[1]ことなので，調査後期において1日当り漁獲量の指数に差が生じたのは船の屯数，網の大きさの違いに起因する投網1回当り漁獲量の違いによるものと推定される。

投網回数についても，片貝では船の揚げ降しに前後約1時間半を費やし，これを投網回数に換算すると2回弱に相当するので，数字上では大原船の方が投網回数は増してよいはずだが，前期の結果によれば投網回数の指数では有意の差がなく，1日1隻当り投網回数では大原船は 3.58 回，片貝船は 2.92 回で大きい開きとはいえない。後期では投網回数の資料はないが，後期において特に投網回数に差を生ずる原因については考えられないので，漁獲量の違いは船の屯数や網の大きさの違いによる影響とみる方が妥当であろう。

すなわち，大原に漁港が竣工したのは昭和25年であるが，昭和28年頃までは片貝と同じ大きさの漁船，漁具であつたために両根拠地の漁船間に漁獲性能上大差がなかつた。しかし，昭和 28 年以後は大原船は漁船，漁具ともに片貝船にくらべ大型になつたため，漁獲性能に差が生じ1日当り漁獲量で有意の差を生じ，1日当り漁獲量では出漁日数の多少により約2倍の開きが出ている (Table 8)。したがつて，漁港の有無は片貝，大原のあぐり網漁業に直接または間接に影響しているとみてよい。

終りに御懇切な御指導並びに論文の御校閲を賜わつた東京水産大学名誉教授田内森三郎先生，および資料蒐集に御協力を賜わつた片貝，大原両漁業組合の諸氏に深謝する。

文　　献

1) INOUE, M.: Some problems on the fishing ability of purse seine fleets for sardine fishery, The Journal of the Tokyo Univ. Fish. **41** (2), (1955).

網地の応力分布—I.
静荷重について

近藤 仁・鈴木 誠

(1959 年 9 月 21 日受理)

THE DISTRIBUTION OF STRESS ON THE FISHING NET—I. ON THE STATICAL LOAD

Yasushi KONDO and Makoto SUZUKI*

As a part of study on the distribution of stress on the fishing net, measurement of tensions which appear throughout the net when a statical load is imposed on was carried out.

The results obtained were as follows:

1) When a load is imposed on a knot of the net vertically, the shape of tension distribution becomes rhombic as shown in Fig. 1 (A–M). Now, if the tension which appears on the leg line starting directly from the point loaded is denoted by T, the following equation will be hold,

$$\frac{T}{W} = K_t + K_a \exp(-k(n-1))$$

where $K_t = t/W$, $K_a = a/W$; t is the remained tension approached to a constant value by attenuation, a is the tension of the first leg minus t, k is the attenuation coefficient, W is the load imposed on, and n is the number of legs from the point loaded.

2) When a load is imposed on a knot of the net horizontally the shape of tension distribution becomes as shown in Fig. 2 (N–S). The same equation as the above will be applicable.

I. 緒言

前報[1)]において，電気抵抗線歪計を用いて網地の張力を測定する検出装置を試作し，その検討を行なつた結果充分目的を達することができるということを確認したので，つづいて予備実験を行ない，つぎのごとき結果を得た。すなわち網地の展開平面上の一結節から重錘を垂下して網地に分布する張力を測定すると，張力の分布状態は，荷重の作用点を通る網糸線を対角線とする菱形に近いものであることを報告した。本実験においては，現在使用されている数種の網地材料について，網地に対し垂直方向および水平方向に1点集中静荷重を作用させ，網地各部に分布する張力を測定した。これらの資料から結節および網糸材料の種類の相違により張力の分布がどのように影響を受けるかをみる目的で行なつたものである。

II. 垂直静荷重実験

1) 実験材料および実験方法

実験に用いた網地材料は，総て機械編の新網地で，天然繊維では綿，マニラ，合成繊維では，アミラン，クレモナ，サランの5種類を選び，結節の種類は，本目，蛙又，無結節（貫通式および千鳥式）で，網糸の太さのほぼ等しいものを選択した。網地は，水平に置いた一辺が2米の正方形の鉄枠に網目が正方形に開く（縮結 0.295）ようにし，また枠の中心に来た結節に重錘を吊して，予め必要箇所の脚に装着して置いた張力検出装置で，その脚の張力を測定した。この場合網地を枠に張る張付条件を同じにするために，網地に一定

* 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish., 6–Shibakaigandori, Minato-ku, Tokyo).

のたるみ，すなわち，中心結節が枠上平面より 10cm 垂れ下るようにした。重錘は 5, 10, 15, 20kg の4種類を用い負荷 15 分後に測定を行なつた。

2）実験結果および考察

網地各部に分布する張力の測定値のうち1目を構成している4脚の張力の中で最大のものを以つてその附近の張力を代表させ，それらの値の等しい点を連ねたものを等値線と称すると，荷重 10kg の場合各網地材料について，3.0, 1.0, 0.5, 0.2kg の等値線を画くと Fig. 1 のごとくである。この図でみられるように，

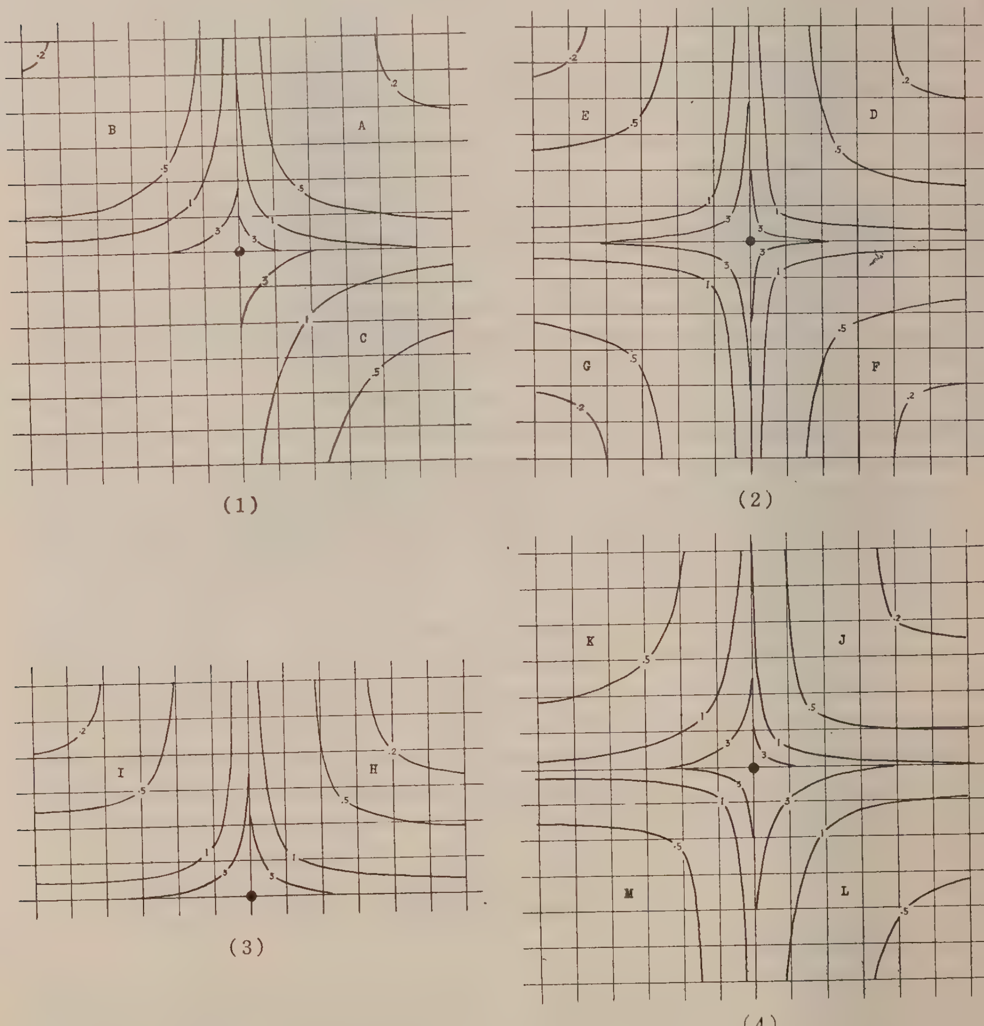


Fig. 1. The distribution of tension when a load was imposed on a knot of the net vertically.

Mark (A–M), kind of the net shown in Table 1; Curved lines, line of equal tension; Numbers, values of tension (kg.); Mark ●, position where a load (10 kg.) was imposed; Shortening of the net, 0.295

These diagrams are drawn on 1/4 area of the net to the point loaded.

各網地について張力分布の型式は予報において述べたものと変りはない。またこのことは負荷量に依つて傾向が変ることはないが張力の大きさおよび分布範囲は材料により異なる。今最も大きい張力が分布している脚線上，すなわち，荷重の作用点を通る脚線上の測定値を整理すると，

$$\frac{T}{W} = K_t + K_a \cdot e^{-K(n-1)}$$

という式が得られた。この式で T は作用点から数えて任意の主脚線上の脚の張力，$K_t = \frac{t}{W}$，$K_a = \frac{a}{W}$，t は張力が段々減衰してゆき，ついにほとんど減衰しなくなつた時なお残存している張力，a は第1番目の脚の張力と t との差，W は重錘の重量，K は減衰の度合を表わす係数である。これらの係数は Table 1 に示す通りである。Table 1 の値から網地における分布張力の大きさ，および張力減衰の度合は，網地の種類によつて異なることがわかる。なかんずく結節種類の影響を比較してみると，いずれの網糸材料でも本目網地の張力は小さい値を示し K の値は大きいので張力の分布範囲はせまく，貫通式無結節網地は最も大きい張力を示し K の値が小さいので張力の分布範囲が広く，したがつて遠くまで張力が伝播する。蛙又網地は両者の中間である。また同じ無結節網地でも千鳥式無結節網地は貫通式とは異なり，本目と蛙又の中間に位置する傾向を示した。つぎに網糸材料別にみると，マニラ網地が最も張力が大きく，割合大きい張力が遠くまで伝播する。マニラ網地についで，アミラン，サラン，クレモナ，綿糸網地の順であつた。

Table 1. Coefficient K_t, K_a and k when a load is imposed on a knot of the net vertically.

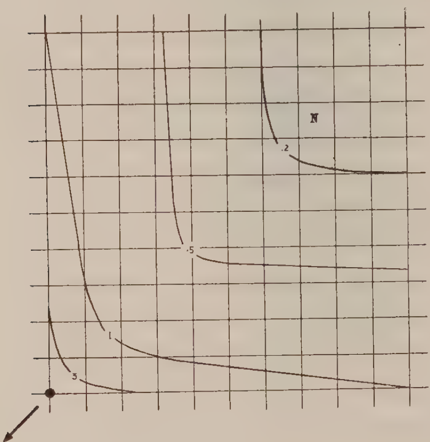
Mark	Kind of material	Dimension of the thread and the mesh			Kind of knot	K_t	K_a	k
A	Cotton	20's	3/60	12.12 cm	Flat	0.07	0.26	0.52
B	〃	〃	〃	〃	Trawler	0.10	0.27	0.46
C	〃	〃	〃	〃	Knotless (Kantsu)	0.11	0.29	0.45
D	Cremona	〃	〃	〃	Flat	0.09	0.24	0.50
E	〃	〃	〃	〃	Trawler	0.15	0.24	0.42
F	Manila twine	1 Monme*		〃	Flat	0.18	0.20	0.42
G	〃	〃		〃	Trawler	0.23	0.25	0.36
H	Amilan	210D	3/90	〃	Flat	0.12	0.25	0.44
I	〃	〃	〃	〃	Trawler	0.17	0.25	0.39
J	Saran	1000D	2/22	〃	Flat	0.09	0.24	0.48
K	〃	〃	〃	〃	Trawler	0.13	0.26	0.40
L	〃	〃	〃	〃	Knotless (Kantsu)	0.17	0.25	0.37
M	〃	〃	〃	〃	Knotless (Chidori)	0.10	0.25	0.42

Note: *: Expression of dimension of manila twine thread by unit of weight Monme (1 monme = 3.75 grams) per 5 feet.

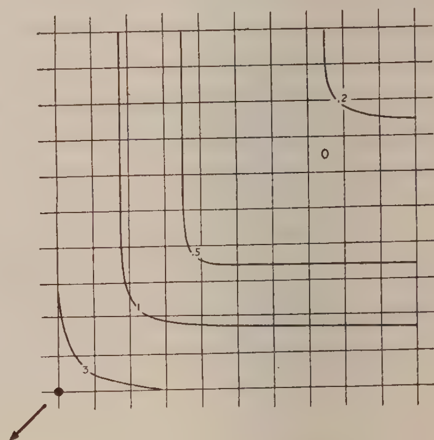
III. 水平静荷重実験

実験方法は，垂直荷重実験の場合と全く同様にして，荷重の負荷方法は，枠の中央に位置する結節に対して網地の展開平面に平行にしかも作用点に向う網糸線のなす夾角を二等分する方向に負荷させた。この場合荷重 10 kg を負荷した時の張力分布状態を垂直荷重の場合と同様にして模式的に図示したものが Fig. 2 (N～P) である。図が示すごとく荷重の作用点に向つている脚線上に大きい張力が伝播し，これらを軸として扇面状を呈する。今この様に相当する脚線上の測定値を整理すると前式が適用され，その係数を求めたものが Table 2 (N～P) である。

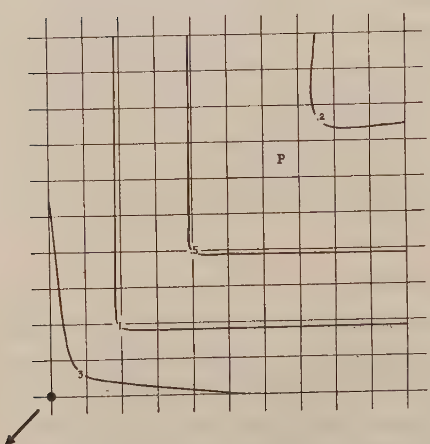
つぎに前と同じ実験方法で，荷重の作用方向を作用点に向う一方の網糸線と同じ方向のみに負荷させた時の張力の分布状態を同様図示したものが Fig. 2 (Q～S) である。 この図から分布張力は荷重の作用線の方向に大きく，かつ遠くまで伝播し，作用線に対して直角の方向へはあまり分布せず，したがつて張力も小さく，かつ急激に減衰することが明らかである。今作用点を通る網糸線について前記のごとく係数を求めると作用線方向については Table 2 (Q～S) のごとくなり，作用線と直角方向については Table (Q′～S′) のごとき値が得られた。この場合において，作用線方向に対しては，やはり無結節が最も大きく，かつ遠くまで伝播し，本目が一番小さい値を示し，かつ遠くまで伝播しない。蛙又はその中間である。作用線と直角方向に対しては，この傾向と反対に張力の減衰は無結節網が最も大きく，ついで蛙又で本目が一番減衰も少なく遠くまで伝播する傾向がみられた。



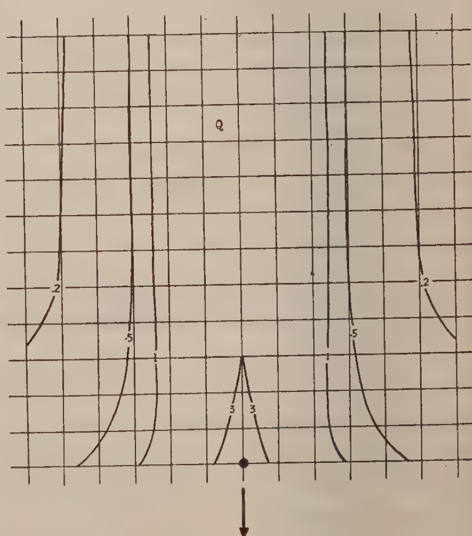
(1)



(2)



(3)



(4)

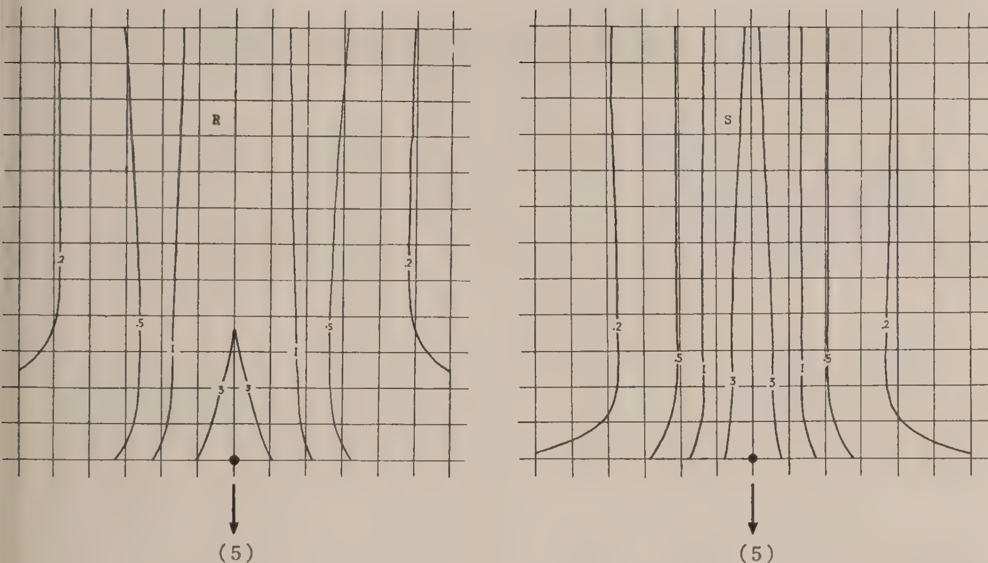


Fig. 2. The distribution of tension when a load was imposed on a knot of the net horizontally.

Mark (N–S), kind of the net shown in Table 2; Curved lines, line of equal tension; Numbers, values of tension (kg.); Mark ●, position where a load (10 kg.) was imposed; Mark ⟶, imposing direction of load; Shortening of the net, 0.295.

Table 2. Coefficient K_t, K_a and k when a load is imposed on a knot of the net horizontally.

Mark	Kind of material	Dimension of the thread and the mesh	Kind of knot	K_t	K_a	k
N	Cotton	20's 3/60 12.12 cm	Flat	0.10	0.52	0.60
O	〃	〃 〃 〃	Trawler	0.18	0.45	0.56
P	〃	〃 〃 〃	Knotless (Kantsu)	0.24	0.40	0.40
Q	〃	〃 〃 〃	Flat	0.22	0.31	0.58
Q′	〃	〃 〃 〃	〃	0.04	0.24	0.54
R	〃	〃 〃 〃	Trawler	0.24	0.32	0.42
R′	〃	〃 〃 〃	〃	0.03	0.25	0.76
S	〃	〃 〃 〃	Knotless (Kantsu)	0.32	0.33	0.23
S′	〃	〃 〃 〃	〃	0.02	0.24	0.89

Note: Q′, R′, S′: On the leg line starting from the point loaded at right angles to the imposing direction of load.

要　　約

1. 網地の1結節に網地面に垂直に静荷重が作用した場合の張力分布は，荷重の作用点を通る網糸線を対角線とする菱形状を呈し，この分布型式は荷重の大小および網地の種類によつて変らないが，張力の大きさおよび分布範囲は，結節別にみると，無結節（貫通式）が最も大きく，本目が最も小さく，蛙又がそ

の中間である，材料別にみると，長繊維のものは短繊維のものに比し張力も大きく分布範囲も広い。

2. 網地の1結節に網地面に水平に静荷重が作用した場合の張力分布状態は Fig. 2 のごとくなり，分布張力の大きさおよび分布範囲は垂直荷重の場合と同じ傾向である。

終りに臨み，この研究を行なうに当り，終始御指導を頂いた　東京工業大学　草間秀俊博士に深謝するとともに実験の手伝いをして下さつた江川靖司，辰村松男，井上四朗の諸氏に感謝します。

なお本研究は農林漁業応用試験研究「網地強度試験機の試作研究」の一部として行なつたことを附記し，関係諸氏に謝意を表します。

引用文献

1) 草間秀俊・近藤　仁・鈴木　誠：日水会誌，**21**，No. 9, 973～974.

煉製品に適用した食品防腐剤の混用効果

合田　愛・伊佐良信

(1959 年 5 月 14 日受理)

THE COOPERATION OF SOME LEAGALIZED ANTISEPTICS IN THEIR PRESERVATIVE APPLICATION TO FISH CAKES

Megumu GODA and Yoshinobu ISA*

The production of fish cakes in Kagawa Prefecture has been supported in respect of the raw material almost exclusively by fishes caught by trawling on the Northeastern China Sea. Therefore, the manufacturers concerned are usually obliged to use a raw fish rather degraded in freshness, which is necessarily apt to result in a short keeping of the product especially in summer. Their occasional use of boric acid and the like as the last resort for elongating the storage life of their elaborations gets often into trouble, because our food sanitation law prohibits the use of said chemicals as a preservative of food.

To save these difficulties, the authors examined the availability of sorbic acid, nitrofurazone and nitrofurylacrylamide for protecting fish cakes from readily undergoing putrefaction. Organoleptic and bacteriological examinations made on three types of fish cake which had been prepared from batches of raw flesh added with said chemicals, either separately or in combination, and exposed after their preparation to temperatures between 25.5° and 32.2°C and relative humidities between 80 and 91% presented the following results:

1. Preservabilities of *Tempura* and *Chikuwa* can be little improved by the presence of 1% soribic acid together with N.F. (a mixture containing 3-(5-nitrofuryl) acrylamide and nitrofurazone in a ratio of 4: 1) at an amount less than 0.0005%. But the storage lives of these fish cakes can be distinctly lengthened by the presence of 0.001~0.002% N.F. added to raw flesh, and it is further elongated by additional presence of 1% sorbic acid even to such an extent as unattainable by singular uses of these chemicals at said concentrations.

2. When applied to *Kamaboko*, N.F. exhibits a preservative effect which lasts over 40 hours to be almost 40 times as strong as that of sorbic acid.

3. Singular application of N.F. at concentrations lower than 0.002% brings about no favorable effect on the preservation of *Tempura* and *Chikuwa*.

瀬戸内海沿岸地方の煉製品は，一般に鮮度の低下した底引漁獲物を原料として製造されるものが多く，したがつて製品化後の変質も早い。しかしこのことは同地方に限らず，一般的概念でもあり，衛生管理当局者が水産加工品の食中毒問題の対象の一つにあげているわけでもある。香川県においてももちろん例外なくほとんど以西底曳漁獲物を原料としており，地理的条件から入荷時にすでに鮮度が低下していることは当然予想されるし，さらに製品の保鮮についてもまた種々の困難さが伴うわけである。煉製品の保存力の延長をはかるには細心周到な原料管理が重要なことはいうまでもないが，一般業者の間では一途に食品防腐剤の効力に依存する傾向が強いようである。このために法的に許可制限されている薬品ではあきたりないで，つい硼酸のような有害でしかも法的に禁止されているものを使用して行政上の処罰を受けている例はしばしばみられるところである。私達はこのような県内発生の事例に当つて，何かの対処方法をみ出そうとした。

防腐剤の煉製品に対する効果については，たとえば，過酸化水素やアルコールのネト防止力[1)]，かまぼこの内部変敗防止[2)] についての研究があり，またニトロフラゾーン系の薬品については，戦後においてその保

* 香川県水産試験場 (Kagawa Pref. Fish. Exp. St.).

蔵効果が多くの実験[3]で確認されて急速に普及使用されるようになつた。一方ソルビン酸もその後に煉製品への適用について幾つかの研究[4]がなされ，法的にも使用許可になつてはいるが，高価のため実用上はいく分普及がおくれているようである。しかしこれらの薬品といえども，一旦鮮度の低下した魚類を使用した煉製品に対しては満足な保蔵力を期待しにくいし，ことに業者間ではニトロフラゾーン系の薬品でも，"てんぷら"や"ちくわ"に対してはほとんど効力がないようにいわれている。そこで私達は本県薬公課および衛生研究所と連絡の下に一おうソルビン酸の一般煉製品に対する効力とニトロフラゾーン系薬品の"てんぷら"，"ちくわ"に対する効力を再検討することにした。そしてさらにこれらの防腐剤をとくに"てんぷら"，"ちくわ"へ，より経済的に有利に適用する意味から両防腐剤の法的許容量＝煉製品 1kg に対し，市販ネオフラスキン（ニトロフリルアクリル酸アミドとニトロフラゾーンを 4: 1 の割合で含有する混合物，以下 N.F. と略称する）0.2g，ソルビン酸（以下 S.A. と略称）2g＝以内の混用がその防腐効果におよぼす影響について実験を行なつた。

効果の判定については，煉製品の腐敗（または鮮度）判定方法について内山・横山[5]および富山・米・菅原[6]等の報告があるが，いづれも決定的な結論をだしていないようであるし，その他実験上の種々の事情から主として官能観察によつて試料の保存中の外部変化を調べ，適宜生菌数を測定して効果判定の示標とした。以下その結果を報告する。

実　　　験

I) S.A. と微量* N.F. との混用による保蔵効果

1) "ちくわ"，"てんぷら"に対する混用効果:

両防腐剤は擂潰時に，澱粉との混合乳液または薬品のみの懸濁液として添加し，製品化後 25.5°～32.2°C，湿度 80～91% の恒温器中に試料を保存した。各試料の観察結果は Table 1, 2 および 3 に示す通りである。

ここで Table 1 における対照区の試料は，実験施設の都合で試験区のものを恒温器保存を始めてから 3 日後に新たに製造し，室温（13～17°C）に 2 日間放置し，その後 0.2% S.A. + 0.0002% N.F. 混用の試験区と同一条件に保持したものである。ところがこの対照区のものは恒温器中で 1 日経過した後には，早くも空洞内にネトが発生し試験区との間に顕著な差異が示された。しかしこの場合，保存条件および試料原料が違うことから，この差異を結論づけるわけにはいくまい。

Table 1. Organoleptically detected putrefaction of *Chikuwa* stored at 25.5～32.2°C.

	Sample \ Days	1	2	3	4	5	6
Slime	S_2F_2	−	−	−	−	−	−
	Control			−*	−*	+	⧻
Mould	S_2F_2	−	−	±	+	+	+
	Control			−*	±*	+	+
Appearance	S_2F_2	−	−	−	−	−	−
	Control			−*	−*	−	−

* Stored at room temp. (13～17°C).

ところで"てんぷら"の場合については，Table 2 に示すように，0.1% S.A.+0.0001%，0.0002% N.F. の二通りの混用をしたところ，N.F. を増量して混用すると，かえつて防腐効力を減ずるような結果となり，測定した生菌数をみてもこのことが認められる。この場合の混合防腐剤はいづれも有意な効果は示されなかつた。

* ニトロフラゾーン法定量（魚肉すり身 1kg に対し 0.005g）附近。

Table 2. Organoleptically detected putrefaction of *Tempura* stored at 25.5°～32.2°C.

	Days / Samples	1	2	3
Appearance	S_1F_1	−	−	−
	S_1F_2	−	−	−
	Control	−	−	+
Smell	S_1F_1	−	−	±
	S_1F_2	−	−	±
	Control	−	−	+
Slime	S_1F_1	−	−	±
	S_1F_2	−	−	+++
	Control	−	−	++++
Mould	S_1F_1	−	−	−
	S_1F_2	−	−	−
	Control	−	−	+
Number of surviving bact. colony	S_1F_1		4.2×10^3	
	S_1F_2		4.8×10^3	
	Control		12.0×10^3	

Relative quantities of the ingredients of the *Chikuwa* and *Tempura*.

Ingredient		"Chikuwa" percentage	"Tempura" percentage
Chopped meat		100.00	100.00
Salt		1.90	1.00
Starch		13.80	14.00
Epiqurin powder		0.46	0.30
Zultine		0.01	0.02
Glucose (crude)		1.94	
Antiseptic S_1F_1	S.A.	0.16	
	N.F.	0.016	
Antiseptic S_1F_2	S.A.		0.10
	N.F.		0.0001
Antiseptic S_2F_2	S.A.		0.10
	N.F.		0.0002

S.A.・・・・Solbicacid,
N.F.・・・・Nitrofruzone＋3-(5-nitrofuryl) acrylamide

Table 3. Organoleptical signs of deterioration of *Tempura*'s prepared with and without addition of some antisepties.
Storag temp. 30 ± 2°C.

	hours / Sample No.	17	41	65	74
Appearance	1	−	+	+	+
	2	−	−	−	±
	3	−	+	+++	+++
	4	−	−	+	++
	5	−	++	++	+++
Smell	1	−	+	+	+
	2	−	−	±	±
	3	−	+	+++	+++
	4	−	−	+	++
	5	−	++	++	++
Slime	1	−	+	++	+++
	2	−	−	+	++
	3	−	+	+++	+++
	4	−	−	++	+++
	5	−	++	++	++++
Mould (Yellow mouldy colony)	1	− (−)	− (−)	+ (+)	+ (+)
	2	− (−)	− (−)	− (±)	± (±)
	3	− (−)	+ (−)	+ (+)	± (+)
	4	− (−)	− (−)	+ (+)	± (+)
	5	− (−)	+++ (−)	++ (+)	++ (+)

Note: Ingredients used for the preparation of *Tempura*'s.

Ingredient	Percentage
Chopped meat	100.00
Salt	1.70
Starch	14.00
Epiqu-powder	0.28
Zultine	0.02
Antiseptic	
Sample No. 1	0.10(S.A.)＋0.0003(N.F.)
〃 No. 2	0.20(S.A.)
〃 No. 3	0.10(S.A.)＋0.0005(N.F.)
〃 No. 4	0.0005(N.F.)
〃 No. 5	None

また Table 3 で，法定許容量の S.A. とニトロフラゾーン法定量と同一量の N.F. とをそれぞれ単用したところでみると，2日（41 時）間はほとんど差がみられないが，3日（65 時）間後には両者の間に差異があらわれはじめ，後者使用のものが次第に変質して行くのに対し S.A. 使用の“てんぷら”は実験期間中ほとんど変質が認められなかつた。ただしこの場合 N.F. は実際の法定量の約 10 分 1 のに当るから，この単用比較は妥当ではない。この際の混用のものでは 0.1% S.A. ＋0.0005%，0.0003% N.F. の二様の添加試料を観察したが，Table 2 の場合と同様に N.F. の増加混用は全く無意味であるばかりでなく 0.1% S.A. ＋0.0005% N.F. 使用のものは対照区と何ら異るところがなかつた。すなわち，この実験の結果では 0.1%

Table 4. Organoleptical signs of deterioration of *Kamaboko*'s prepared with and without addition of some antiseptics. Stored at 30±2°C.

	*Sample No. \ hours	16	40	64	88
Appearance	1	−	±	+	++
	2	−	±	±	++
	3	−	±	±	+
	4	−	+	+	+++
Smell	1	−	−	−	+
	2	−	−	±	++
	3	−	−	−	−
	4	−	±	±	++
Slime	1	−	−	−	±
	2	−	−	±	+
	3	−	−	−	−
	4	−	−	±	++
Mould	1	−	+	+	++
	2	−	+	+	++
	3	−	−	+	+
	4	−	±	+	+++
Yellow mouldy colony	1	−	±	++	++
	2	−	+	+	++
	3	−	±	+	+
	4	−	++	+++	++++

* Sample No. 1 Added with 0.1% S.A.+ 0.0005% N.F.
〃 No. 2 〃 0.0005% N.F.
〃 No. 3 〃 0.2% S.A.
〃 No. 4 Control.

S. A. に 0.0001～0.0005% N. F. の混用では両防腐剤の複合効果はもちろん増加混用の効果さえも期待ができないが，0.2% S.A. を使用すると“てんぷら”はかなり保蔵力をもたせ得ることがわかつた。

2) 蒸しかまぼこに対する混用効果

N. F. が蒸しかまぼこに対してかなりの保存効力のあることは，一般に知られているところである。この実験では，前回とほぼ同一の条件の下で，S.A.，N.F. の単用および混用の各効果を比較してみた。その結果は Table 4 に示す通りであつた．これによると，2日 (40 時) 間は総体的にほとんど差がみられないが， 3日 (64 時) 後は N.F. 単用のものと，S.A. との混用のものは同じ程度に変質するようで， S. A. 混用の意味がないようにみえるが，法定量の S.A. 単用のものは前二者よりすぐれており， 4日 (88 時) 間，可食限界の保蔵力がみられた。これらの試験区のものは対照区のものに比べて，S.A. 単用のものは3日，N.F. 単用のもので 1～2 日，混用のものもほぼ同じ保存延長力が推定され，矢張り複合効力は認められなかつた。この実験から，“てんぷら” に，0.0005% 程度の使用ではほとんど効果の認めにくかつた N.F. が蒸かまぼこに対しては，よく S.A. の 40 分の1量で 40 時間も，S.A. と同じ保蔵力を示すことにより， その効力の著しいことがわかるし， N.F. のすぐれた特性として認めることができよう。

以上の実験から，ソルビン酸は法定量では，“てんぷら” にも “かまぼこ” にも一おう効力はみられるが，これを半量にして N.F. を 0.0001～0.0005% の範囲で混用しても量的効果も複合効果も，生じてこないことがわかる。

これはソルビン酸 (S.A.) の半減によるものか，または N.F. の微量使用によるものかは，添加製品によつて異るようである。

II) 再び “てんぷら”, “ちくわ” に対する混用効果

すでにニトロフラゾーン系の N.F. が “てんぷら” および “ちくわ” に対し，有意な効力が認めがたかつたので，本実験においても S.A. を中心にした混用添加することにした。実験 I で添加使用した N.F. の量は法定量に比べて極微量 (法定量の 5/100～15/100) であつたので，この際は “てんぷら” にも，“ちくわ” にも一様に，さらに法定量に近い量 = ニトロフリルアクリル酸アミド法定量 (煉製品 1kg に対し 0.02g) 附近 = に増加し 0.002% N.F. の単用および 0.1% S.A. との混用，ならびに 0.001% N.F. と 0.1% S.A. との混用による試料を恒温保存して前回と同じように観察した。その結果は Table 5 に示す。

すなわち N.F. を 0.002% 使用しても対照にさえ劣るが，これを 0.1% S.A. と混用すると前回の実験経過とは異り2日 (41 時) 後には効力が現れ初め，時間がたつにつれて混用した N.F. の量的効果も認められるようになり，黴の発生防止にもまた効力を示すようである。したがつて N.F. を 0.0001～0.0005% の微量範囲で 0.1% の S.A. と混用した場合， 量的逆効果の現象がみられたが， ニトロフリルアクリル酸アミドの法定量=0.002% および半量を 0.1% S.A. と混用すると複合効果も量的効果もみられ，この場合，

Table 5. Organoteptical signs of deterioration of *Tempura*'s and *Chikuwa*'s prepared with and without addition of some antiseptics.

Stored at 30±2°C.

	Sample No.	"Tempura" 24 hrs.	"Tempura" 41 hrs.	"Tempura" 65 hrs.	"Chikuwa" 24 hrs.	"Chikuwa" 41 hrs.	"Chikuwa" 65 hrs.
Appearance	1	−	−	−	−	−	−
	2	−	+	+++	−	−	±
	3	−	−	−	−	−	−
	4	−	±	++	−	−	±
Slime	1	−	−	±	−	±	+
	2	+	++	+++	−	+	−
	3	−	−	±	−	−	±
	4	±	+	+++	±	+	++
Smell	1	−	−	±	−	−	±
	2	−	+	++	−	+	++
	3	−	−	±	−	−	±
	4	−	+	+++	−	+	+
Mould	1	−	−	+	−	−	−
	2	−	+	+	−	−	±
	3	−	−	−	−	−	−
	4	−	+	++	−	−	+
No. of Surviving bact. colony	1		11×10^6			10×10^6	
	2		320×10^6			280×10^6	
	3		7×10^6			6×10^6	
	4		270×10^6			200×10^6	

Note: Ingredients used for the prepavation of the *Tempura*'s and *Chikuwa*'s.

Ingredients	%
Chopped meat	100.00
Salt	2.50
Starch	20.00

Antiseptic: Sample No. 1 {S.A. 0.1, N.F. 0.001}　Sample No. 3 {S.A. 0.1, N.F. 0.002}
〃 No. 2 N.F. 0.002　〃 No. 4 None

S.A. 単用よりも有利になることがわかつた。

以上のことから 0.1% S.A.+0.002% N.F. の混用，0.2% S.A. 単用の各試料での可食保蔵の限界は，25°～30°C での保存結果では 3 日内外と思われる。しかし夏季または温暖期の自然条件下で，しかも大量の製品を輸送するような場合には，当然他の人為的な諸要因も加わるから，そのままの期待をかけることはできない。

本実験では経過の都合で，S.A. の使用量を一定にして，N.F. の混用量を変えた試料の観察に終つたため当初の経済的な目的を充分に果すことはできなかつた。

価格の安い N.F. の使用量を一定にして，S.A. の混用量を変えた実験が行なわれて有利な混用基準*が見出されなくてはならない。

要　　約

N.F. (ニトロフラゾーンとニトロフリルアクリル酸アミドを 1: 4 に含有し，商品名ネオフラスキンという) と S.A. (ソルビン酸) との混用および各の単用の煉製品を温度 25.5°～32.2°C，湿度 80～91% の恒湿器中に保存し，これらの試料の時間的外部変化の状況を観察し，一部生菌数を測定し，とくに "てんぷら",

* 現在上野製薬 K.K. より "ソルフラン" の商品名の混合品が市販されている。

"ちくわ" に対する混用を中心に効果の検討をした。

1) 魚肉すり身に対し 0.16% S.A.+0.016% N.F. を添加した "ちくわ" では，1.5 日位の保存延長が推定され，0.1% S.A.+0.0001〜0.0005% N.F. を添加した "てんぷら" では，量的逆効果がみられ，複合効果はみられなかつたが，0.2% S.A. の単用で効果があり，0.0005% N.F. の単用ではほとんど効果が認められなかつた。

2) 蒸かまぼこでは，0.0005% N.F. 使用でも効力がみられ，40 時間以内ならば，その 40 倍量の S.A. と同等の保蔵力をもつているようであるが，同量の N.F. を 0.1% の S.A. と混用してもその複合効果は認められなかつた。

3) "ちくわ"，"てんぷら" に法定量の S.A.，ニトロフリルアクリル酸アミド法定量と同量の N.F. をそれぞれ単用した場合，前者では 3 日間位の保蔵効力が期待できるが，後者は無使用にも劣つていた。しかし 0.1% の S.A. に 0.001%，0.002% の N.F. を混用した "てんぷら"，"ちくわ" では量的効果も複合効果も示された。そしてこの二つの防腐剤の単用および混用の実験結果では，その保存能力の優先順位は次のように考えられる。

0.1% S.A.+0.002% N.F.，0.2% S.A.，0.1% S.A.+0.001% N.F.，すなわち 0.002% 以下の N.F. を "てんぷら"，"ちくわ" に単用しても効力はないが，これを 0.1% S.A. と混用すると，N.F. の量が 0.001% 以上では効力が発揮されるようである。

終りに本報告をまとめるにあたり，御助言と御校閲を賜わつた京都大学教授清水亘博士，東京水産大学平野助教授およびネオフラスキン (N.F.) についての資料と御教示を頂いた上野製薬 K. K. 横山理雄氏に厚くお礼申上げる。また実験施行に当り，試料の製造に便宜を与えられた。国方，魚寅および岡田の各商店ならびに実験に協力を頂いた県薬公課藤井，原田両技師，県衛生研究所岡崎技師の諸氏に深甚の謝意を表する。

文　　献

1) 木村金太郎: 水産製造全書，産業評論社 (東京)，(1948).
2) 清水 亘: 蒲鉾，生活社 (東京)，(1949).
3) 上野製薬 K.K.: フラスキンの食品防腐剤としての研究，(1950).
4) 台糖 K.K. ソルビン酸の研究，(1950).
5) 内山 均・横山和吉: ねり製品保蔵の研究，本誌，**18** (12)，(1953).
6) 富山哲夫・米 康夫・菅原憲典: 食品の鮮度判定に関する研究，本誌，**21** (8)，(1955).

魚肉ソーセージの軟化現象について—V.
軟化原因細菌 *Bacillus circulans* の芽胞生育におよぼすピロ燐酸ソーダおよびソルビン酸の影響

内山 均・天野慶之

(1959 年 6 月 19 日受理)

THE SOFTENING SPOILAGE OF FISH SAUSAGE—V. EFFECT OF SODIUM PYROPHOSPHATE AND SORBIC ACID ON THE GROWTH OF SPORE OF *BACILLUS CIRCULANS*.

Hitoshi UCHIYAMA and Keishi AMANO*

In the previous papers[1,2,3], characteristics of the softening spoilage of fish sausage, species of causative bacteria with reference to its activity of decomposing starch under anaerobic condition have been reported. In addition, the use[4] of a mixture of three different compounds, including sodium pyrophosphate, sorbic aicd and glucose was suggested to be effective as a preventive means of this particular spoilage.

This time, the nature of sodium pyrophosphate relevant to the retardation of growth in the spoilage bacteria will be discussed.

W. Vishniac (1950)[18], and separately G. Dirheimer (1956)[19], already pointed out an inhibitory effect of pyrophosphate or tripolyphosphate on yeast hexokinase. They noticed that some chelating action of these polyphosphates with magnesium ion would cause the inhibition of hexokinase, which then can be restored by addition of $MgSO_4$ or adenosinetriphosphate.

Halvorson (1957)[6] stated that certain bacterial spores will be able to make process of glucose metabolism without E.M.P. glycolytic cycle. After the germination take plack, however, phosphorylation reatcion[22] should be necessary for normal growth and propagation of their vegetative cells. It is probably valid from Treadwell's experiment (1958), in which he added one of the following sodium azide, monoiodoacetic acid and dinitrophenol to the spore culture and found a marked retardation in growth phase of vegetative cells after the germination had completed.

A similar line of the research is just our primary concern about *Bacillus circulans* how the different stage of its growth is really inhibited by the presence of sodium pyrophosphate and sorbic acid.

By a test for the culture of *Bacillus circulans* in a medium containing pepton, glucose, sodium chloride, and sodium pyrophosphate (0.4 per cent), it showed a more restricted consumption of glucose accompanied by a samll change in pH value throughout the cultivation than the culture in which the polyphosphate was entirely absent.

A nepherometric observation was carried out of the whole progress of growth, covering germination, outgrowth and cell division of the microorganism, with a culture medium, to which L-alanine (6 mM), adenosine (12 μM), sodium pyrophosphate (0.4%) and sorbic acid (0.1%) were incorporated. As shown in Fig. 3 and 4, the pyrophosphate not looks like to affect on germination but on the growth phase afterward. Also it is clear in a series of photomicrograph of Plate 1, vegetative cells in chain form can scarcely be seen even after 24 hours' incubation, while in a control run, many rod-shaped forms in chain are found in a sample of 9 and 24

* 東海区水産研究所 (Tokai Reg. Fish. Res. Lab. Chuō-ku, Tokyo, Japan).
東海区水産研究所業績 B 第 321 号

hours'. The presence of sodium azide or monoindoacetic acid can give a similar pattern of growth (Plate 2 and 3). Also electronmicrographs from Plate 5, 6 and 7 would show a more detailed picture of each growth phase. In the culture containing sodium pyrophosphate, certain number of spore indicate translucent area in spore and others are partly broken after a few hour's cultivation and small number of vegetative form only develops in 24 hours' culture.

From the foregoing findings, sodium pyrophosphate and sorbic acid seem to play a main part of inhibition on both growth phase and cell division rather than on germination of the spores of *Bacillus circulans*.

前報[1),2),3)]で，魚肉ソーセージの軟化現象の特徴および原因細菌等について述べ，この防止には，ピロ燐酸ソーダならびにソルビン酸を glucose とともに擂身に加えることによつて，防止できることを報告[4)]した。

このような添加物が，軟化防止に効果あるのは，加燐酸分解による，糖の代謝機構と何らかの関係があろう。すなわち，芽胞から発育型細胞が形成される際に，これらの添加物が存在すると，母細胞への生育が抑制されるばかりでなく，母細胞自身の分裂も阻害されるのではなかろうかと推察した。なぜなら，HALVORSON*[5)] 等は，細菌芽胞の場合，いわゆる E. M. glycolytic cycle を経ずして，グルコースの代謝が行われるとしているけれども，発芽以後の生育には，加燐酸分解**の反応を否定することはできないと考えられるからである。

今回は，軟化原因細菌，*B. circulans* の芽胞を用い，上述の添加物の存在下における，芽胞の発芽およびその後の生育状態を検討し，併せて，形態学的変化を光学顕微鏡および電子顕微鏡によって観察したので，その結果を報告する。

実験方法

1. ピロ燐酸ソーダ添加培地による *B. circulans* の培養

肉エキス，pepton，食塩を含む液体培地に，glucose を 0.5% になるように加え，同時にピロ燐酸ソーダを 0.4% に加えて 115°C, 10 分加熱殺菌して用いた。対照には，ピロ燐酸ソーダを加えないものを用い，両者に，*B. circulans* の芽胞懸濁液を一定量加えて，glucose の消費および pH の変化をみた。glucose は HANS 法により，pH は BECKMAN model G の測定器によつた。

2. 芽胞懸濁液の調製

細菌芽胞を高収率に得ることは，菌種によつてはかなり困難である。従来から，いろいろの方法が考慮されているが，一般に Mn イオン[7)]の存在は，sporulation を良好にするとされているので，$MnSO_4$ を培地に加えて，*B. circulans* を培養した。すなわち，普通寒天培地に 0.08% になるように $MnSO_4$ を加え，滅菌後，大形ペトリ皿に流し，固定後，無菌箱の中で，4〜5*** 日培養の *B. circulans* を表面に均一に接種し，30°C に 10 日間培養して芽胞の形成を促した。つぎに，これを殺菌したスパチュラで掻きとり，殺菌燐酸緩衝液 (pH 7.0〜7.2) に懸濁させ，綿栓**** を有する無菌遠心沈澱管にいれて，遠心し洗滌する。芽胞は，3000 回転 30 分にして大部分が沈澱してくる。上澄液を捨て，再び殺菌緩衝液を加えて，80°C, 20 分加熱して残存する発育型細胞を殺菌する。以後この洗滌操作を検鏡によつて，発育型細胞のみえなくなるまでくりかえした (10 回以上)。洗滌の終つた芽胞懸濁液は，凍結保存し必要に応じて生理的食塩水でうすめて用いた。

---

* HALVORSON は，E.M.P. cycle の代りに hexose monophosphate pathway を想定している。しかし，天羽氏は菌株によつては，E.M.P. cycle を否定することはできないとしている。

** NaF, HCN, dinitrophenol[17),22)] 等によつて，芽胞の発芽後の生育が阻害されるのは，その一つの証左であろう。

*** *B. circulans* のコロニーは，この程度の培養でないと形成されない。

**** 遠心中，綿栓が脱落しないように，上部に細いくびれをつけた沈澱管を試作した。

3. 発芽およびそれ以後の生育観察に用いた培地

芽胞が発芽する際の栄養要求[8),9),10)]については，多くの報告がなされているが，中でも，L-alanine および adenosine は，好気性芽胞形成菌の芽胞に対して，発芽促進作用のあることが広く知られている。そこで，軟化原因細菌，*B. circulans* の発芽およびそれ以後の生育の観察にも，L-alanine および adenosine を添加した培地を用いた。

pepton (1%)，肉エキス (1%)，glucose (0.5%)，食塩 (1%) を含む培地に，L-alanine を 6mM に，adenosine を 12μM になるように加え，ピロ燐酸ソーダを加えるものは，前回同様，0.4% になるように加えた。そして，さらに魚肉ソーセージに添加が許されている，ソルビン酸を 0.1% 添加して，115°C, 10分加熱殺菌して用いた。

これに，前述した芽胞の懸濁液を，生理的食塩水で稀釈し，80°C, 20 分加熱し冷後，一定量を培地に加え，37°C で発芽およびそれ以後の生育過程を観察した。

なお，発芽後の芽胞生育抑制剤の一種である，NaN_3 を 2×10^{-3} M 濃度に，monoiodoacetic acid を 2.4×10^{-4} M 濃度に同様の培地に加え，燐酸塩添加区のものと比較して，発芽およびそれ以後の生育への影響を観察した。

4. 発芽および発育型細胞形成過程の観察法

芽胞の発芽の判定は，耐熱性の消失および非染色性[11),12)]の有無等の判定によつて行われているが，outgrowth およびこれが発育型細胞まで生育していく過程を，連続的に観察するには，芽胞懸濁液の透過率を測定していくのが便利である。

HACHISUKA[13)] および MANDELS[14)] が指摘しているように，芽胞は発芽に際し，まず芽胞自身が透明となり，耐熱性と非染色性を失う。この過程までを発芽と見なせば，発芽はそれが含まれる培地の透過率の低下を測定することで判断できる。発芽した芽胞はひき続いて膨化し，体積を増大していく。したがつて，一度低下した透過率は再び増大し，かつ発育型細胞の分裂とともに著しく増大することになる。

透過率の測定には，実験の一部では COLEMAN 光電比色計を用い，一部では日立製分光光電光度計を用いた。波長は両者とも，610 mμ である。芽胞を植えつけた，L-alanine 添加培地そのものを，氷中に保持し，発芽を阻止して常に標準液とし，37°C で培養したものと比較した。

5. 芽胞および発育型細胞数の測定

前述した培地より白金耳で試料をとり，これを TOHMA の血球計算室に流し，常法[15)]にしたがつて一室中の芽胞数および発育型細胞数を観察した。この目的は，NaN_3 あるいは monoiodoacetic acid を添加したもの，さらにピロ燐酸ソーダ等を加えたものは，対照区に比べて，発育型細胞への生育が顕著に抑えられるから，その割合を比較検討するためである。観察は位相差顕微鏡を用いて，暗視野で観察するのが容易である。

以上の観察と平行して，時間ごとに変化する芽胞形態の写真撮影をおこなつた。培地を含んだ菌体を塗抹して標本を作ると，培地中の食塩が析出し，観察が困難となり，また，析出した結晶を再び溶解してから観察しようとすると，菌体が僅かに流動するので，長時間の露出では明確な写像が得られない（特に位相差顕微鏡による場合は，視野が暗いため，撮影には長時間の露出を必要とする）。

そこで，一時間おきに採集した培養液を，遠心分離して，殺菌蒸溜水で洗い，再び蒸溜水を加えて，これを塗抹固定し，APATHY[16)] のゴムシラップ*中に包理して撮影した。

6. 電子顕微鏡による芽胞および発育型細胞の観察

実験 5 で述べた試料のうち，培養前の休眠芽胞と，6 時間および 24 時間培養の対照区と燐酸塩添加区とを選んだ。各懸濁液は，蒸溜水で数回洗滌し，これを直ちに sheat mesh に滴下，自然乾燥させてから，50キロボルト加速電圧で観察し撮影した。電子顕微鏡は明石製作所 TRS-50 E 1 を用いた。

---

* 包埋の際，シラップに濃淡ができるので，標本に波紋状の像ができ，鮮明な写像ができにくかつた。

実 験 結 果

1. *B. circulans* の glucose 代謝におよぼすピロ燐酸ソーダの影響

前述した glucose 培地に 0.4% のピロ燐酸ソーダを加え，*B. circulans* の芽胞を約 10^4/ml 程度に植えつけた。30°C に放置して，glucose の消費を測定したところ，Fig. 1 に示すような結果が得られた。燐酸塩を加えた場合は，明かに glucose の代謝抑制がみられる。このような実験は，再三くりかえしたが，同じような結果が得られた。

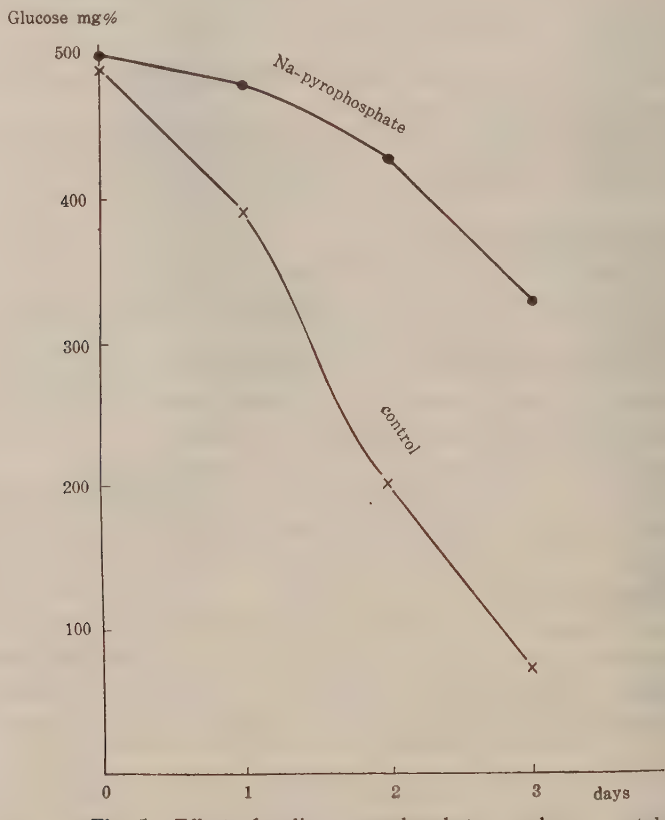


Fig. 1. Effect of sodium pyrophosphate on glucose metabolism of spores of *B. circulans*. (30°C.)

Fig. 2 は，同じ実験の pH の変化である。glucose の消失と一致した結果が得られ，燐酸塩を加えたものは，培地の pH が低下しにくい傾向がある。

2. *B. circulans* の芽胞の発芽およびそれに続く生育段階におよぼすピロ燐酸ソーダおよびソルビン酸の影響

前述した方法で，L-alanine, adenosine 等を加えた培地に，*B. circulans* の芽胞を約 10^4/ml 程度に加え，37°C に放置して，時間とともに変化する培地の透過率を測定した結果は，Fig. 3 に示すごとくである。

透過率は，実験開始後，約1時間までに低下し，芽胞が発芽していることを示す。NaN_3 を加えた場合は2時間近く要し，発芽が多少抑制されていることが判る。ところが，対照区および燐酸塩添加区は，ほとん

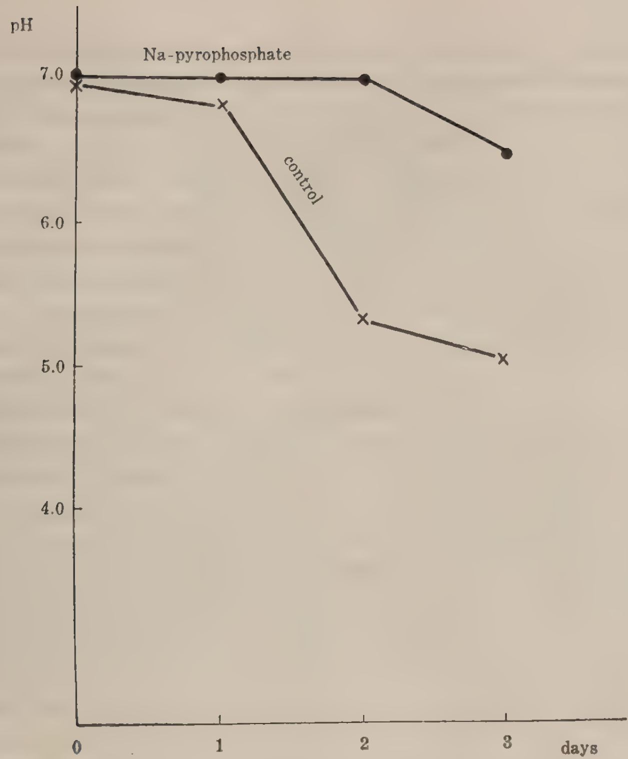


Fig. 2. Effect of sodium pyrophosphate on glucose metabolism of spores of *B. circulans*. (30°C.)

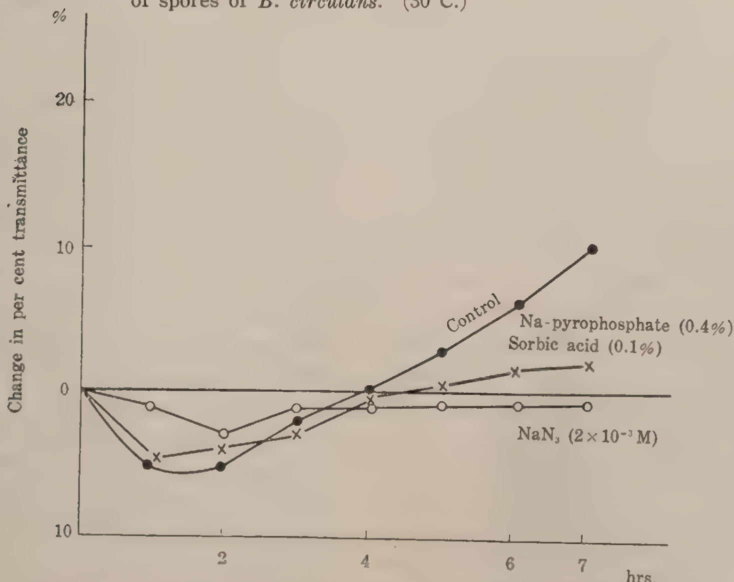


Fig. 3. Change in per cent transmittance of a thick suspension of spores of *B. circulans*.

Table 1. Effect of sodium pyrophosphate and sorbic acid on the formation of vegetative cell developed from spore of *B. circurans*.

	Control			Na-pyrophosphate +sorbic acid		
	Total number	Number of rods	$\frac{\text{Rod}}{\text{Total}} \times 100$	Total number	Number of rods	$\frac{\text{Rod}}{\text{Total}} \times 100$
1	37	11	29.7	28	1	3.5
2	44	10	22.7	38	2	5.2
3	49	11	22.4	39	0	0
4	46	14	30.4	50	0	0
5	52	20	38.4	26	2	7.6
6	48	10	20.8	46	0	0
7	46	12	26.0	48	0	0
8	52	8	15.3	56	0	0
9	54	10	18.5	51	1	1.9
10	56	8	14.2	54	4	7.4

Bacterial counts were carried out with TOHMA's haemocyometer.

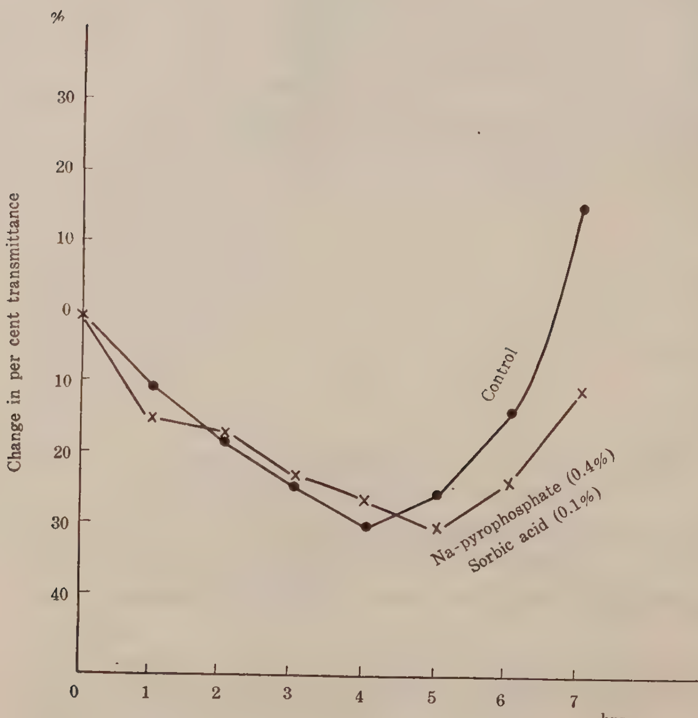


Fig. 4. Change in per cent transmittance of a thick suspension of spores of *B. circulans*.

ど同一の低下曲線をたどる。このことは，燐酸塩その他の添加物が，芽胞の発芽には影響していないと考えられる。けれども，発芽以後の透過率は，対照区に比較して，燐酸塩添加区は上昇しにくいから，抑制は発芽後の生育に関係しているのであろう。さらに，NaN_3 を添加した場合は，この傾向が著しい。NaN_3 添加区を，位相差顕微鏡で観察したところでは，芽胞から生育した連鎖状の桿状菌が全くみられなかつた。

つぎに，対照区と燐酸塩添加区との，全菌数に対する桿状の発育型細胞数との割合を検鏡によつて比較してみると，Table 1 のごとき値が得られた。すなわち，7時間では，燐酸塩添加区の場合，桿状の発育形細胞数が全菌数に比較して少なく，その全菌数に対する比率は，0～7.6% の範囲にあるのに反して，対照区は 14～38% の範囲にある。

以上の実験により，燐酸塩添加区は，芽胞の発芽以後の生育を抑制すると推定される訳であるが，さらに芽胞の濃度を変え，また，正確を期するために，分光光電光度計（日立製 EPU 2 型）を用いて実験をくりかえした。

実験方法は，前述の方法と全く同様におこなつたが芽胞は約 $10^6/ml$ 程度に加えた，

Fig. 4 に示すごとく，対照区および燐酸塩添加区の低下は，ほとんど同様の曲線を示し，以後，燐酸塩添加区が上昇しにくいことが判る。この点から推定しても，燐酸塩添加区の抑制作

用は，発芽後の生育に関係があるとみてよかろう。

3. *B. circulans* の芽胞をピロ燐酸ソーダおよびソルビン酸で処理した場合の形態的変化の観察

図版1は，前述の実験と同様の培地に，*B. circulans* 芽胞を植えつけて，対照区および燐酸塩添加区中に存在する芽胞が，どのような形態的変化を示すかを観察したものである。試料は1時間おきに採集して撮影したが，ここでは，6，9，24 時間の観察結果を示すことにする。

S は，芽胞懸濁液中の休眠芽胞である。これを各々の培地に加え，37°C に放置した。対照区では，6 時間ですでに桿状の発育型細胞の形成がみられる。9 時間では，発育型細胞が連鎖状に結合し無数に形成されているのが認められる。連鎖の状態（対照区 10 時間）を，拡大してみると，図版4のごとき様相をしている。これに反して，燐酸塩添加区は，連鎖状の発育型細胞が全く認められない。培地に NaN_3 あるいは monoiodoacetic acid を加えた場合の観察は，図版2および3に示す。両者とも，燐酸塩添加区*と同様に・連鎖状の発育型細胞の形成がみられなかつた。

4. 電子顕微鏡による *B. circulans* の芽胞生育過程の観察

光学顕微鏡による，上述の観察に追加して，電子顕微鏡の観察結果を，図版 5，6，7 に示す。

試料は前述の培養前の休眠芽胞および，6時間と 24 時間培養の対照区と燐酸塩添加区である。

休眠芽胞には全く透明な部分がみられない。しかし芽胞に接して capsule 状** のものがみられる。対照の6時間培養では，すでに芽胞から桿菌の形成が認められ，24 時間培養では，発育型細胞が連鎖するまでに生育しているのが判る。燐酸塩添加区の6時間では，桿状の発育型細胞はみられないけれども，一部の芽胞には透明な部分あるいは，すでに崩壊した部分がみられる。このような形態を示すものは，耐熱性を消失したものとみなし得る。また 24 時間では，桿状の発育型細胞がみられるようになるが，その比率は対照区に比べてはるかに少ない。

以上から，燐酸塩およびソルビン酸の作用は，発芽以後の生育に関係していることは勿論であるが，発育型細胞の形成，生育，分裂の諸段階にも抑制を示すものと考えられる。

考　　察

TREADWELL[17]は，*Clostridium botulinum* を用い，芽胞の発芽と outgrowth およびこれが母細胞まで生育していく過程について興味ある実験をしている。すなわち，本細菌芽胞に，NaN_3, fluoride, monoiodoacetic acid, dinitrophenol 等の酵素阻害剤，あるいは subtilin, penicillin, streptomycin のごとき抗生物質を加えた場合，発芽は完全に抑制されないが，outgrowth の段階では，NaN_3 および fluoride 以外の化合物は阻害作用を示す。また NaN_3 および fluoride は，発育型細胞自身の生長および分裂を阻害するとしている。

軟化原因細菌，*B. circulans* の芽胞の場合も，NaN_3 の添加によつて，発芽が対照区に比べて，やや抑制されるが，完全には阻止し得ないことが判る。しかし，発芽後の培地の透過率は上昇せず，連鎖状の発育型細胞の形成は，24 時間培養でも認められなかつた。monoiodoacetic acid を加えた場合の形態も，NaN_3 を加えたものと同じ傾向である（図版3）。燐酸塩添加区の芽胞も，NaN_3 を加えたものと同様な透過率を示し，これらの添加物が，発育型細胞の形成，生育，さらにまた分裂にも抑制を示しているといえよう。

加うるに電子顕微鏡による形態的変化の観察も，よく透過率の測定結果と一致している。すなわち，燐酸塩添加区の 24 時間培養（図版7）では，顕著ではないが，単一の発育型細胞の形成がみられるのである。このことは，燐酸塩およびソルビン酸が，芽胞の発芽抑制に大した関係がなく，それ以後の生育，分裂を抑制するとみられるが，さらに長時間培養について検討したい。

HACHISUKA[13] は，*B. subtilis* (PCI 219) の芽胞の発芽過程を電子顕微鏡観察している。そして発芽の

* 後述するごとく，電子顕微鏡による観察では，単細胞の発育型細胞が形成されていることが判る。

** 母細胞の細胞膜残滓と考えられる。洗滌により除去されやすいものと，されにくいものとある。天羽氏による。

初期には，芽胞細胞に透明な部分が形成され，耐熱性が失われ，ついで崩壊がおこり新しい発育型細胞の形成をみるとしている。*B. circulans* の場合も，図版 5，6，7 に示すごとく，同様な過程を経て母細胞になることが認められた。

ピロ燐酸ソーダの芽胞生育に対する抑制作用機構が何かは，今後の最も重要な課題であるが，VISHNIAC[18] の報告した *Saccharomyces cerevisiae* hexokinase のトリポリ燐酸による阻害などは一つの見解といえる。彼は，hexokinase の co-factor である Mg が，トリポリ燐酸でキレートされるためとして，トリポリ燐酸の阻害作用を，ATP あるいは $MgSO_4$ の添加で回復させることを知つた。同様の結果を，DIRHEIMER[19] も確認しており，直鎖の縮合燐酸塩は阻害作用があるが，トリメタ燐酸のような環状構造を有するものは，濃度を高めても，阻害を示さないという。

ピロ燐酸ソーダとともに，ソルビン酸を加えたのは，たまたま魚肉ソーセージに添加が許可されている事情を考慮したためだがピロ燐酸ソーダとの協同作用には，疑問がある。

最近，今井[20]および岡[21]は，食品防腐剤の作用機構を検討し，ソルビン酸，デハイドロ醋酸，サルチル酸のような酸性抗菌剤の効果は，分子の非解離性部分が，菌体に吸着されることによるとし，そして，解離分子は，吸着されにくいことをみとめ，菌体の荷電が吸着を阻むと説明している。

この意見をとり入れると，われわれの実験では，酸性領域でソルビン酸を用いていないから，ソルビン酸による芽胞生育の抑制は小さいものと想像される。これらについては，ピロ燐酸ソーダのキレーションの知見と併せて検討中である。

いずれにしても，縮合燐酸塩は，いわゆる食品防腐剤ではないが，こうした特質を利用して，より毒性の少ない，しかも貯蔵性のある食品を工夫改良していくことが，これから著者らの注目しているところである。

要　　約

1) 魚肉ソーセージにピロ燐酸ソーダおよびソルビン酸を glucose とともに加えると，軟化変敗を防ぐことができる。そこで，これらの添加物が，芽胞生育のどの段階に抑制作用を示すかを検討した。

2) 軟化原因細胞，*B. circulans* の芽胞を glucose を含む培地で培養した場合，ピロ燐酸ソーダを加えると，glucose の代謝が抑制される。

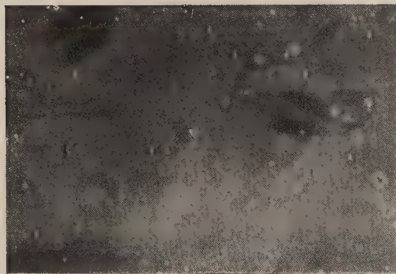
3) *Bacillus* 属の芽胞発芽促進物質として知られている。L-alanine, adenosine, glucose を加えた培地に *B. circulans* の芽胞を加えて，発芽およびそれ以後の生育を，培地の透過率を測定して観察してみると，ピロ燐酸ソーダおよびソルビン酸を加えたもの，また NaN_3 を加えたものは，発育型細胞の生育が抑制されていることが判る。

4) ピロ燐酸ソーダおよびソルビン酸添加区の抑制作用は，芽胞の発芽そのものには影響をおよぼさない。なぜなら，これらの添加物を加えた場合も，無添加の場合も，透過率に顕著な相違がない。

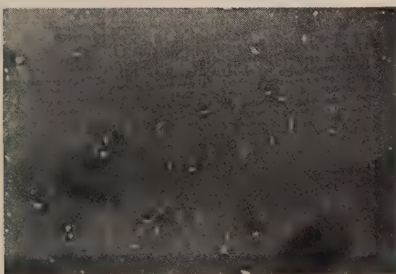
5) 電子顕微鏡によつて，芽胞生育の過程を観察してみると，ピロ燐酸ソーダおよびソルビン酸添加区は，連鎖状に結合した，発育型細胞がみられない。しかし，芽胞細胞に透明な部分が形成されたり，崩壊したものも現われる。これらは耐熱性を失つた芽胞である。このことは，ピロ燐酸ソーダおよびソルビン酸の抑制作用は，発芽以後の生育抑制であるということができる。しかも，その抑制は，発育型細胞の形成および，これが分裂する両段階におよぶと考えられる。

終りに臨み，各種の文献をはじめ，何かと御指示を得た，東京大学，天羽幹夫博士に厚く御礼申し上げ，実験に助力された沖野秀高氏，また，顕微鏡写真の撮影に協力された，田中武夫氏に感謝する。

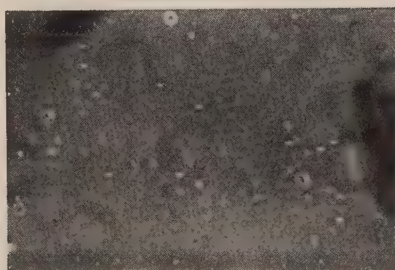
電子顕微鏡観察および，その撮影は，明石製作所，栃木弘，白井恵美子氏等にお世話いただいた。併せて感謝の意をあらわす。



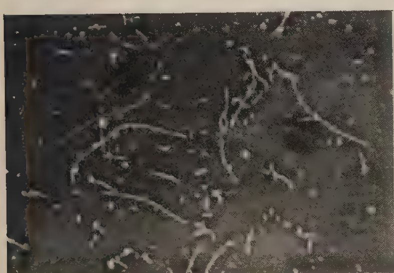
Dormant spores (s)



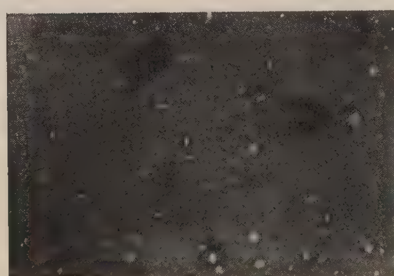
6 hrs



6 hrs



9 hrs

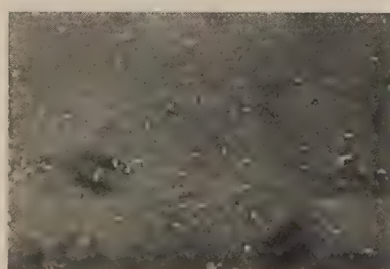


9 hrs



24 hrs

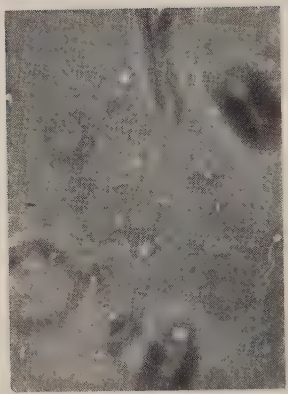
Control



24 hrs

Sodium pyrophosphate (0.4 %)
Sorbic acid (0.1 %)

Plate 1. Effect of sodium pyrophosphate and sorbic acid on the formation of vegetative cells developed from spores of *B. circulans*. (×225).



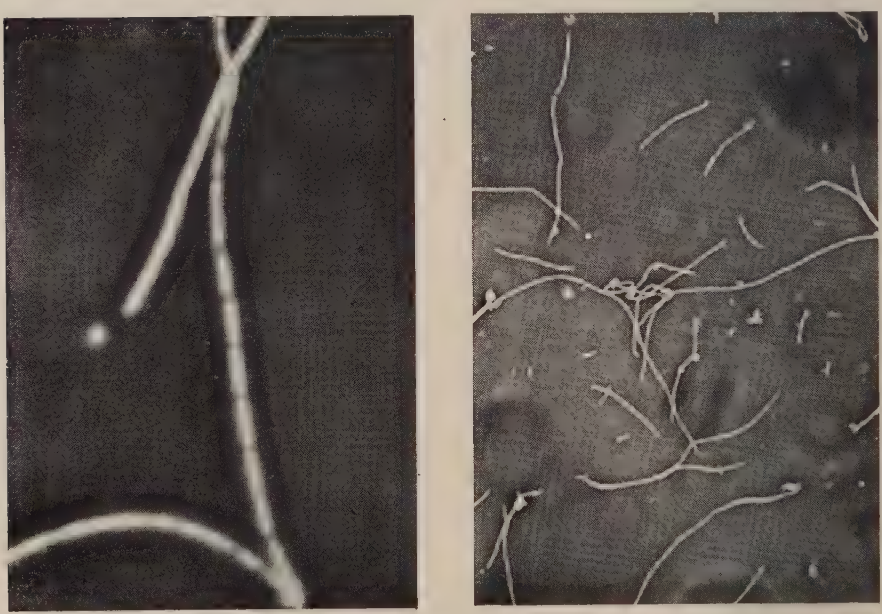
24 hrs (×225)

Plate 2. Spore suspension added by sodium azide (2×10^{-3} M)



24 hrs (×225)

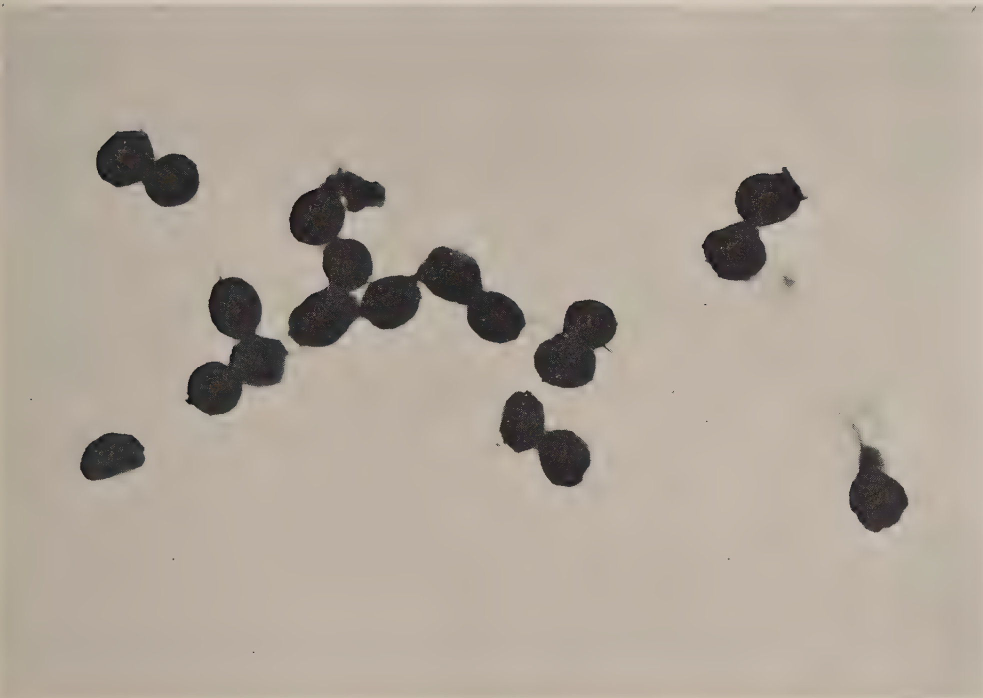
Plate 3. Spore suspension added by monoiodoacetic acid (2.4×10^{-4} M)



10 hrs (×1800)

10 hrs (×380)

Plate 4. Microscopic observation of vegetative cells of *B. circulans.*



(× 10000)

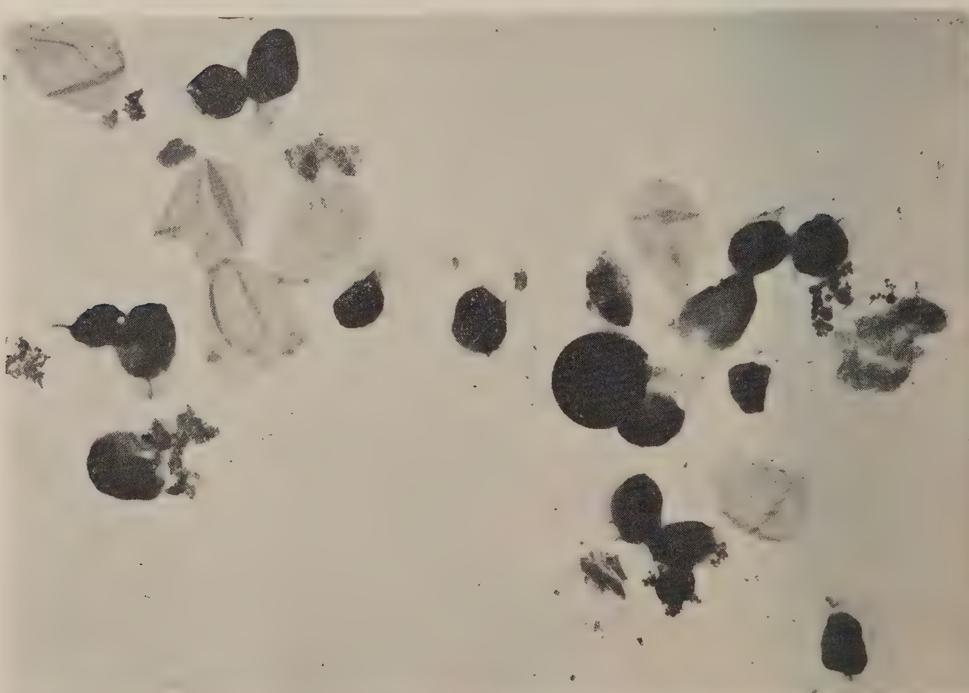


(× 30000)

Plate 5. Electron microscopic observation of dormant spores of *B. circulans*.

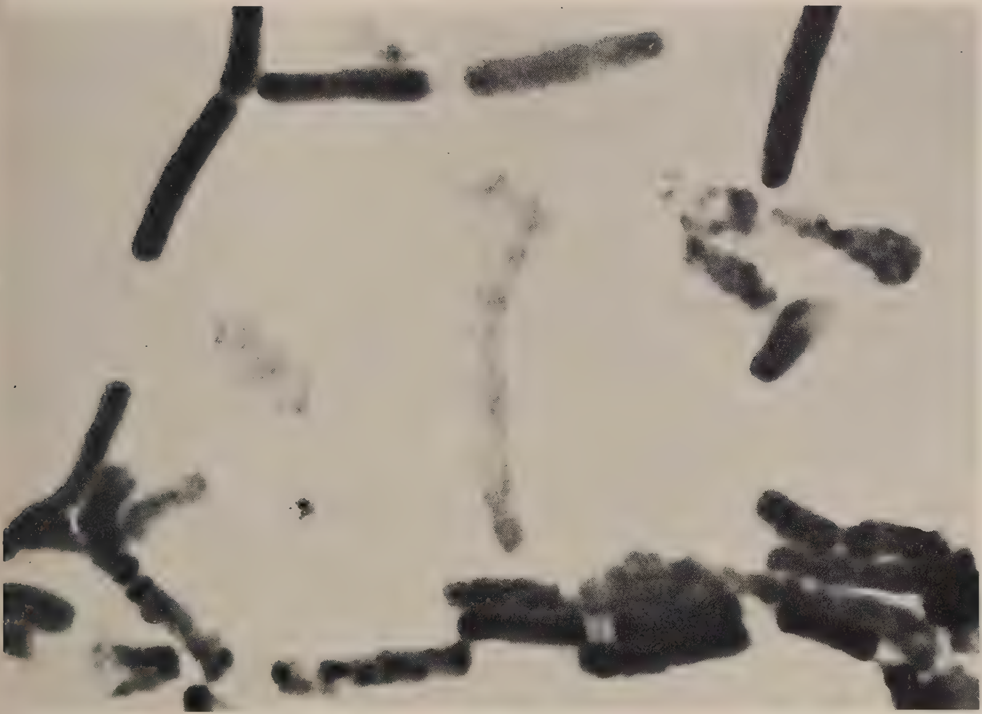


Control (6 hrs)

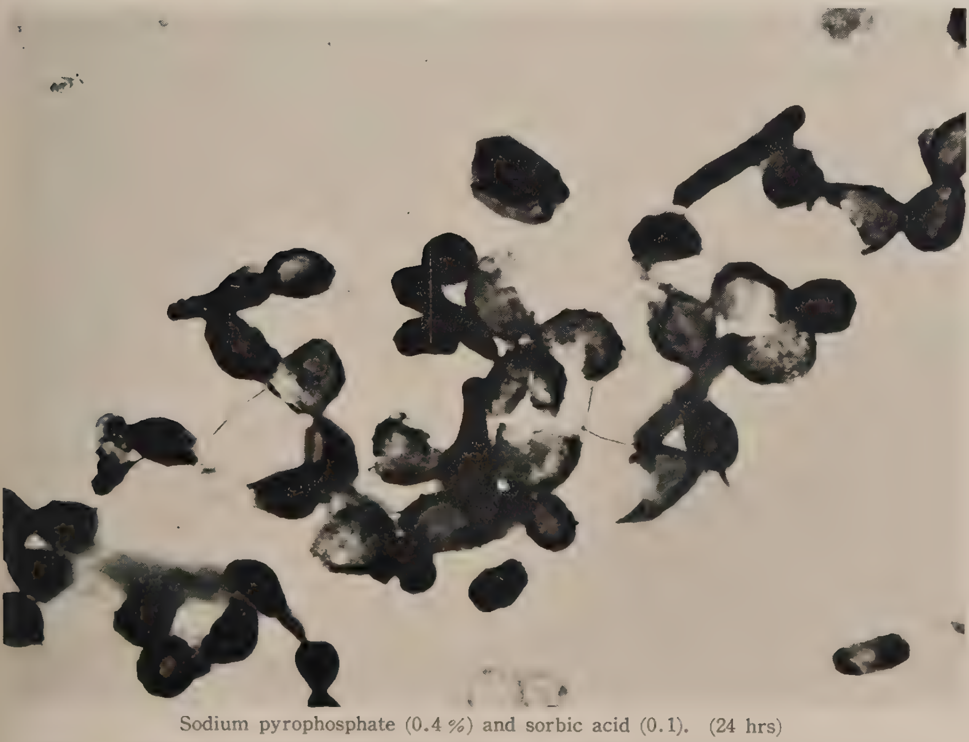


Sodium pyrophosphate (0.4 %) and sorbic acid (0.1 %). (6 hrs)

Plate 6. Electron microscopic observation of spore germination and vegetative cell formation of *B. circulans*. (×1000).



Control (24 hrs)



Sodium pyrophosphate (0.4 %) and sorbic acid (0.1). (24 hrs)

Plate 7. Electron microscopic observation of spore germination and vegetative cell formation of *B. circulans.* (×10000).

参 考 文 献

1) 内山 均・田中武夫: 本誌, **24**, pp. 148～155 (1958).
2) 横関源延・内山 均: 本誌, **24**, pp. 156～160 (1958).
3) 内山 均・横関源延: 本誌, **24**, pp. 370～377 (1958).
4) 内山 均・天野慶之: 東海区水産研究所報告, 投稿中 (1959).
5) H.O. HALVORSON: Bacteriological Reviews, **21**, 112～131 (1957).
6) 天羽幹夫: 日本農芸化学シンポジウム要録 (1958).
7) D.O. HITZMAN: Journal of Bacteriology, **74**, 1～7 (1957).
8) G.M. HILLS: Biochemical Journal, **45**, 353～362 (1949).
9) G.M. HILLS: Journal of General Microbiology, **4**, 38～47 (1950).
10) W.K. HARREL: Journal of Bacteriology, **69**, 275～279 (1955).
11) J.E. POWELL: Journal of General Microbiology, **5**, 993～1000 (1951).
12) L.L. CAMPBELL: "Bacterial Spore Germination–Definitions and Methods of Study" in H.O. HALVORSON (ed) "Spores" (1957) pp. 33～44 (American Institute of Biological Sciences Washington, D.C.)
13) Y. HACHISUKA: Journal of Bacteriology, **69**, 339～406 (1955).
14) G.R. MANDELS: Journal of General Physiology, **39**, 301～309 (1956).
15) M. AMAHA: Journal of General and Apllied Microbiology, **3**, 169～192 (1957).
16) 緒方知三郎: "病理組織顕微鏡標本の作り方手ほどき" 1版, 南山堂, 東京. (1954), pp. 133～134.
17) P.E. TREADWELL: Journal of Bacteriology, **76**, 544～556 (1958).
18) W. VISHNIAC: Achaive Biochemistry, **26**, 167～172 (1950).
19) G. DIRHEIMER: Bulletin de la Societe De Chimie Biologique **38**, 1337～1353 (1956).
20) 今井 寛: 農産加工技術研究会, 第6回大会シンポジウム, 食品添加物, pp. 30～36 (1959).
21) 岡 智: 醗酵工学雑誌, **36**, 502～504 (1959).
22) Y. HACHISUKA and N. ASANO: Science, **124**, 174～175 (1956).

魚肉ソーセージの腐敗細菌に関する研究—I.

市販魚肉ソーセージ中の細菌数について

赤　松　幹　夫

(1959 年 6 月 15 日受理)

BACTERIOLOGICAL STUDIES ON THE SPOILAGE OF FISH SAUSAGE—I. NUMBER OF BACTERIA PRESENT IN THE MEAT OF FISH SAUSAGE ON THE MARKET

Mikio Akamatsu*

Having collected forty-nine kinds (35 fish sausages and 14 fish hams) of fish sausage manufactured by various makers, the author has examined the number of bacteria present in content of the sausage. Aerobes and anaerobes are examined in their counts before and after samples have been kept at a temperature of 30°C for some two weeks.

The results obtained are shown in Table 1 and Figs. 1∼4.

In all the samples bacteria are found to exist more or less. Before the samples have been kept at the temperature, the number of anaerobes present in the meat is generally less than that of aerobes. In other word, most (ca. 80%) of the samples contain $10^2 \sim 10^3$ of aerobes and $10^1 \sim 10^2$ of anaerobes per g. of the meat. But after the samples have been kept at the same temperature for the same duration of time, bacteria in all the samples increase in number, though their increasing degree vary with the kinds of samples. In sixteen samples of ours the contents of aerobes are found to be more than 10^6 per g. of the meat, while in the fifteen samples those of anaerobes are also more than 10^6. Some of samples are organoleptically observed to have been deteriorated during their storage. But the deterioration degree dose not seem to correlate with the number of bacteria present or grown in the meat.

It seems clear from Fig. 4 that the environmental conditions of fish sausage to be caused by its casing are generally neither aerobic nor anaerobic enough to inhibit the growth of aerobes or anaerobes.

近年わが国の水産加工食品の中でもつとも重要な製品の1つにまで発展した魚肉ソーセージは数年前まではしばしば多量の変敗品の発生をみたが，その後製造技術の研究，改良などにより貯蔵性という面においてはかなり改善されて来た。しかし本製品はその生産が短日月の間に驚異的に増大したものであるから該製品についての研究は未だ少なく研究改良をしなければならぬ問題も多く残されている。

そこで著者は魚肉ソーセージについて主として細菌学的立場から研究をはじめた。本報においては市販31社 49 製品の魚肉ソーセージ類について製品中の細菌数とさらに 30°C で2週間前後貯蔵を続けた後の製品中の細菌数を調べたのでここに報告する。

試料および実験方法

1. 試　料

魚肉ソーセージ 32，魚肉ハム 15，ウインナースタイル魚肉ソーセージ2を含む市販の 31 社 49 製品である。各製品2本宛を用い（同時に製造されたものと思われる），うち1本を直ちに，残り1本を 30°C で

* 京都大学農学部水産学教室 (Dept. Fish., Kyoto Univ.).

13〜18 日間貯蔵した後に実験に供した。

Table 1. Count of bacteria per g. of the meat of various fish sausages on market.

Sample No.	Before storage: Aerobic culture	Before storage: Anaerobic culture	After storage at 30°C for about two weeks: Days stored	Aerobic culture	Anaerobic culture	Organoleptic test
1	4.2×10^4	10	14	1.0×10^6	$<10^2$	B
2	3.0×10^2	<10	16	4.8×10^5	$10^5(10^4)$	B
3	4.0×10	10	16	7.0×10^3	10	A
4	8.0×10^2	$10^2(10)$	16	$>10^7$	10^7	B
5	3.0×10^2	10^3	18	8.4×10^4	$10^4(10^3)$	A
6	4.1×10^3	10^2	18	1.0×10^3	10^2	B
7	3.7×10^3	10^3	18	2.5×10^5	10^6	B
8	8.0×10	10	16	8.7×10^5	10^5	A
9	1.4×10^3	10(10)	16	5.6×10^6	10^6	B
10	8.0×10	<10	18	4.0×10^5	10^5	A
11	1.0×10^2	10	16	6.0×10^2	10^2	A
12	—	—	15	1.0×10^3	10^2	A
13	1.8×10^5	$10^3(10)$	13	1.5×10^6	$10^6(10^5)$	D
14	3.9×10^2	10^2	18	6.0×10^3	10^4	A
15	1.3×10^3	$10^2(10)$	16	3.8×10^3	10^2	A
16	6.0×10^2	10	16	$>10^6$	$10^7(10^2)$	A
17	9.0×10^2	10^2	18	$>10^6$	10^6	A
18	3.8×10^3	10(10)	18	8.0×10^3	10^3	D
19	2.5×10^5	10^2	13	1.5×10^8	10^8	C
20	2.7×10^3	10(10)	18	4.7×10^5	10^6	A
21	3.0×10^3	$10^2(10)$	18	1.2×10^4	$10^3(10)$	A
22	2.4×10^2	10	16	9.0×10^2	10^2	A
23	2.3×10^6	$>10^4(10^4)$	13	1.1×10^7	10^7	C
24	1.5×10^3	10^2	18	2.2×10^4	10^4	B
25	2.0×10^2	10	15	1.2×10^3	10^2	B
26	2.8×10^3	10	16	2.1×10^6	10^6	B
27	1.5×10^3	10^2	18	2.5×10^5	10^5	A
28	3.0×10^2	<10	16	6.1×10^5	10	B
29	—	—	18	1.1×10^4	10^2	A
30	1.2×10^4	10	18	4.0×10^5	$10^2(10^2)$	B
31	1.1×10^3	10(10)	18	$>10^6$	10^6	B
32	4.3×10^2	10	18	6.4×10^6	10^6	D
33	$>10^6$	$10^2(10)$	13	3.0×10^7	10^7	C
34	4.1×10^2	10(10)	15	4.8×10^5	10^3	C
35	1.6×10^3	$10^2(10)$	15	4.4×10^4	10^4	B
36	1.5×10^3	10(10)	13	6.5×10^6	$<10^3$	B
37	3.0×10^4	$10^3(10^2)$	13	2.0×10^7	10^3	C
38	4.0×10^2	10	15	1.1×10^3	10^2	B
39	3.6×10^5	10(10)	15	3.0×10^5	10^4	C
40	1.9×10^3	$10^2(10)$	14	2.0×10^7	10^6	D
41	2.8×10^2	$10^2(10)$	14	4.0×10^4	$<10^3$	C
42	5.0×10^2	$10^2(10)$	14	4.0×10^3	$<10^3$	A
43	1.0×10^2	<10	14	1.0×10^6	$<10^3$	D
44	7.0×10^2	10^2	16	2.3×10^4	10^3	A
45	1.1×10^3	$10^2(10)$	14	1.0×10^5	$<10^3$	D
46	3.6×10^3	$10^2(10)$	14	2.0×10^5	10^5	B
47	1.2×10^2	10	15	2.0×10^2	10^2	B
48	1.3×10^2	10	15	2.0×10^3	$<10^3$	B
49	2.6×10^3	$10^2(10^2)$	18	1.8×10^3	10^2	B

Sample No. 1〜32: fish sausages; 33〜34: vienna stayle fish sausages; 35〜49: fish hams.

Number in parentheses shows the counts of bacteria which formed gas from glucose by the anaerobic culture.

A: Normal edible. B: more or less faded and lost in flavour, but edible. C: Somewhat deteriorated, not edible. D: Putrefied.

2. 実験方法

各試料から 2g を無菌的に採肉し，これに滅菌水 8cc を加えてホモジナイズした後滅菌水を加えて適当に稀釈し，好気性細菌の菌数測定は普通寒天を用い混和平板培養を行ない 30°C で 5 日間培養を行なつた後発生した集落数から試料中の細菌数を算出した。嫌気性細菌の菌数測定には適量のビタミンCを含むブドウ糖寒天を用い，好気性細菌の場合と同様に試料を稀釈し，寒天混和高層培養を行ない，さらにその上に無菌の普通寒天培地を約 5cm の厚さに重層し 30°C で 5 日間培養した。このような重層法では一般に集落数の測定が不確実であるから嫌気性細菌の数は概数として桁数を求め 10^n で表示した。またこのような培養法では偏性嫌気性細菌以外に通性嫌気性細菌も一般に増殖しうるから本報で述べる嫌気性細菌は両者を含むものと想像される。

実験結果およびその考察

I. 市販品入手時の細菌数

市販魚肉ソーセージ類の肉中に含まれる細菌数は Table 1 に示す如くである。また Table 1 から一定の含菌数を示す試料の頻度数を図示したものが Fig. 1 である。すなわち好気性細菌については 1g 当りの細菌数が 10^2〜10^3 程度のものが多く全試料の 76% 以上を占めている。これに対して 1g 当りの細菌数がこの値以下あるいはこの値以上もあるような製

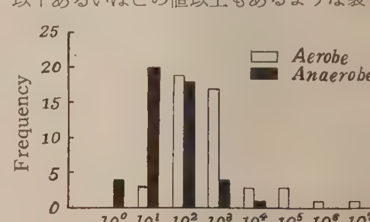


Fig. 1. Number frequency diagram for bacteria in fish sausage meat on market (before storage).

品は少ない。嫌気性細菌については 1g 当りの細菌数が 10^1～10^2 程度である製品が多く全試料の 80% 以上を占めており，これ以下あるいはこれ以上もある製品は少ない。さらに個々の試料については 1g 当りの好気性細菌数*(a) と嫌気性細菌数* (b) の比を調べ同様にその頻度数を図示したものが Fig. 2 である。すなわち好気性細菌数が嫌気性細菌数に較べて 10 倍程度多い製品が全試料の 47% を占めて最も多く，ついで同数程度のものおよび 100 倍程度好気性細菌が嫌気性細菌より多いものが多い。しかし逆に嫌気性細菌が好気性細菌より多い例はきわめて稀で全試料中僅かに 1 例を見出したに過ぎない。また嫌気的培養によりブドウ糖からガスを産成する細菌は嫌気性細菌の一部であることが Table 1 からわかる。はじめに述べたごとく本報で称する嫌気性細菌の中には通性嫌気性細菌も含まれるから魚肉ソーセージ類の偏性嫌気性細菌による汚染の割合は好気性細菌に較べてかなり小さいのではあるまいか。

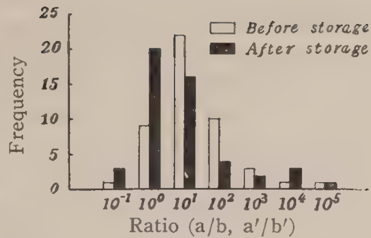


Fig. 2. Number frequency diagram for ratio of number of aerobe to that of anaerobe in the meat of fish sausage on market. a, a′: number of aerobe before storage, after storage, respectively. b, b′: number of anaerobe before storage, after storage, respectively.

II. 30°C で 13～18 日間貯蔵した後の細菌数並びにその時における肉眼観察による変敗の程度

得られた結果は Table 1 に示すごとくであり Fig. 3 は Fig. 1 と同様に Table 1 から一定の含菌数を示す試料の頻度数を表わしたものである。いずれの試料も 30°C で 2 週間前後貯蔵した場合には肉中の細菌数は程度の差はあるが例外なく増加する。この増加の割合は好気性細菌でも嫌気性細菌でも各試料により，まちまちであつて一定の傾向は見出せない。これは恐らく含有する合成保存料や合成殺菌料等の影響によるためと思われる。しかし貯蔵前には 1g 当りの細菌数が 10^6 以上もある試料は好気性細菌については僅か 1 例だけであつたが貯蔵後には全試料の約 1/3 がこの数に達しており（好気性細菌について 16 例，嫌気性細菌について 15 例），高温で貯蔵された場合には貯蔵中にかなり細菌が増殖するものがあることを示している。また貯蔵後の各試料について前記 I で述べたと同様に 1g 当りの好気性細菌数 (a′) と嫌気性細菌数 (b′) との比 a′/b′ を調べ頻度数を Fig. 2 に示した。すなわち貯蔵前には好気性細菌数が嫌気性細菌数に較べて 10 倍程度多い試料が最も多かつたが貯蔵後にはこのような値を示す試料の数は次位となり両者の数がほぼ等しいものが最も多くなつたことがわかる。逆に嫌気性細菌数が好気性細菌数より多い試料は貯蔵前と同じくきわめて少ない。また嫌気的培養によりブドウ糖からガスを産成する細菌は貯蔵前のものの場合と同様に嫌気性細菌の一部であり，かつこのような細菌が増殖したものは非常に少ないことが Table 1 から充分うかがわれる。市販魚肉ソーセージ類の肉中には上述のように好気性細菌の数が嫌気性細菌の数に較べて多いが，該食品の有する環境条件がこれら 2 つの細菌のいずれの発育に好適であるかを明らかにするために貯蔵中におけるこれらの細菌の増殖の割合を調べて見た。すなわち Table 1 から個々の試料について a′/a, b′/b を求め，この値の頻度数を図示すると Fig. 4 が得られ

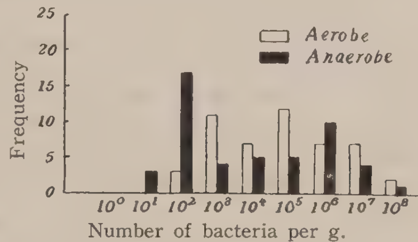


Fig. 3. Number frequency diagram for bacteria in fish sausage meat on market (after storage at 30°C about two weeks).

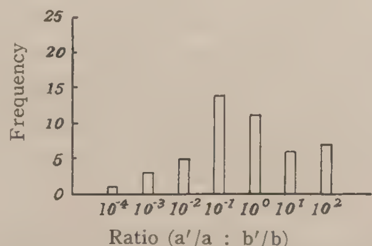


Fig. 4. Number frequency diagram for multiplying ratio (a′/a : b′/b) of aerobes to that of anaerobes in fish sausage during storage at 30°C about two weeks. a, a′: number of aerobe before storage, after storage, respectively. b, b′: number of anaerobe before storage, after storage, respectively.

* この場合の細菌数は好気性細菌，嫌気性細菌ともに概数として 10^n で表示したものを用いた。

る。この値が 10^{-1} すなわち嫌気性細菌の増加の割合が好気性細菌の増加の割合の 10 倍である例が最も多く見出される反面，その値が 10^{0} あるいは逆に 10^{1}，10^{2} である場合すなわち好気性細菌と嫌気性細菌の増加の割合が等しいか，あるいは好気性細菌の増加が嫌気性細菌の増加より良好である例もかなりあることがわかる。井野[1]は魚肉ソーセージの腐敗細菌として該食品が包装食品であるため嫌気性有芽胞細菌に特に注目しており，また横関[2]もこれらの食品が包装によつて内部が嫌気的状態を維持しているために好気性有芽胞細菌はその増殖が阻害されると述べているが，上述の結果から考察すると魚肉ソーセージ類がケーシングによつて保たれる嫌気的状態は好気性細菌の増殖を一般に阻害しうる程のものではなく，肉中に存在する好気性細菌の増殖も嫌気性細菌の増殖と同じく支障のない環境であることを示している。

つぎに魚肉ソーセージ類中魚肉ハムはその製品の性質上ブロック肉を含むため防腐剤の均一な混和が魚肉ソーセージに較べて困難であるため貯蔵中における細菌の増殖は魚肉ソーセージの場合に較べてより容易であろうと予想されたが，取扱つた試料の範囲では細菌の増殖という点については魚肉ソーセージの場合と特に目立つた差異は認められない。

全試料 49 製品は貯蔵前においては肉中の細菌数が非常に多い少数の製品をも含めていずれも官能的に異常は認められなかつたが 30°C で約 2 週間貯蔵することにより商品価値を著るしく損じたり，腐敗したものがかなり発生した。貯蔵後の試料についての官能的検査の結果は Table 1 に示すごとく，i）悪変が認められず商品価値を失つていないと思われるもの 17 例，ii）腐敗には至つていないが油焼臭の発生，香味の低下，褪色等により商品価値を損じているもの 19 例，iii）初期腐敗と認められるもの 7 例，iv）完全に腐敗しているもの 6 例に分けられるが，これらの結果は必ずしも細菌数の多少と一致しない。例えば試料番号 16 および 17 は細菌数が非常に増加しているにもかかわらず官能的には異常を認められない。岡村ら[3]は水産ねり製品は原料の相違により腐敗生産物が異なるため腐敗の目安として製品中の細菌数を測定することが最適であることを提唱しているが，魚肉ソーセージ類の場合は上述のように製品の悪変と細菌数の多少とは必ずしも一致した関係は認められない。これは恐らく該製品は他の無包装ねり製品の場合と異なり細菌の二次的外部汚染が防除されているため製品により増殖菌の種類が異なるためと考えられる。

終りに，本研究にあたり終始熱心な御指導を賜わり，かつ論文の校閲をしていただいた当教室木俣正夫教授に深甚なる謝意を表する。

要　　　約

1. 市販魚肉ソーセージ類（魚肉ソーセージ，魚肉ハム，ウインナースタイル魚肉ソーセージを含む）31 社 49 製品を 30°C で約 2 週間貯蔵し，その前後における肉中の細菌数を測定した。

2. 市販魚肉ソーセージ類は好気性細菌数 g 当り 10^{2} あるいは 10^{3} 程度を含むものが最も多く，試料の 76% であつた。また嫌気性細菌数は一般的に好気性細菌数より少なく 10^{1} あるいは 10^{2} 程度を含むものが最も多く全試料の 80% を占めた。

3. 30°C で約 2 週間貯蔵後は全試料とも細菌数は増加した。しかしその増加の割合は試料によつて異なるが，好気性細菌数が g 当り 10^{6} 以上に達したもの 16 例，嫌気性細菌数が 10^{6} 以上に達したもの 15 例であつた。しかし悪変の程度は必ずしも細菌数とは一致しなかつた。

4. 同一試料中に存在する好気性細菌数と嫌気性細菌数との割合は貯蔵前では好気性細菌が嫌気性細菌の 10 倍位存在するものが多く，貯蔵後では両者ほぼ同数のものが多いが，嫌気性細菌が好気性細菌より多いものは貯蔵の前後をとわず，きわめて稀である。

5. 魚肉ソーセージ類の有する環境は好気性，嫌気性両菌のいずれかの増殖を阻害する程好気的でもなく嫌気的でもなかつた。

文　　　献

1) 井野米次：腐敗研究所報告，**7**，31～42，1954.
2) 横関源延：本誌，**23** (9)，543～546，1958.
3) 岡村一弘：生活衛生，**2** (2)，51～64，1958.

魚肉ソーセージの腐敗細菌に関する研究—II.
市販魚肉ソーセージ中の細菌の種類について

赤　松　幹　夫

(1959 年 6 月 15 日受理)

BACTERIOLOGICAL STUDIES ON THE SPOILAGE OF FISH SAUSAGE—II. KINDS OF BACTERIA PRESENT IN THE MEAT OF FISH SAUSAGE ON THE MARKET

Mikio AKAMATSU*

The present study is intended to ascertain how the kinds of bacteria in the meat of fish sausage act upon its spoilage. All the aerobic strains that have been isolated from the samples used in the previous work[1] we have classified into three kinds—spore forming rod, non spore forming rod and cocci. Together with these, those which have been isolated from the samples, when kept at 30°C about two weeks, are brought about to the identification by BERGEY's manual. Some of the strains identified are tested respecting the formation of volatile base and histamine.

The results obtained are shown in Table 1 and Fig. 1, which may be summarized as follows:

1) Spore forming rods are found predominant in all the samples, but non-spore forming rods and cocci are found only in about one-third of all the samples.

2) Between the bacterial flora isolated from the deteriorated samples and that from those samples where no deterioration is recognized in spite of the increase of bacterial counts, there is a remarkable difference. Isolated from the former are *Bac. subtilis*, *Bac. pumilus* and *Sarcina flava*, while isolated from the latter are *Bac. coagulans*, *Bac. firmus*, *Bac. lentus*, *Bac. circulans*, *Bac. michaelisii*, *Bac. kaustophilus* and *Flavo. invisibile*.

3) Remarkable activity of forming volatile base is observed among *Bac. subtilis*, *Bac. pumilus* and *Sarcina flava*, which have been principally isolated from the deteriorated samples of ours, but it is not so with the other bacteria. Any of those examined strains can hardly produce histamine.

著者は前報[1]において市販魚肉ソーセージ類を 30°C で約 2 週間貯蔵し，その前後の肉中の好気性細菌数および嫌気性細菌数を調べ魚肉ソーセージ類がケーシングによつて保たれる環境は好気性細菌の増殖を阻害しうる程嫌気的ではなく，また該製品の偏性嫌気性細菌による汚染の程度は一般に少いことを明らかにし，さらに製品の変敗の程度と肉中の細菌数とは必ずしも一致しないことなどを観察した。

本報においてはその時の試料から分離した好気性細菌の種類とこれらの細菌と悪変との関連について若干の考察を行つたので報告する。

試料および実験方法

試料:　前報に用いた試料と全く同じである。

実験方法:　前報において好気性細菌の計数に用いた寒天混和平板上に発生した集落について，その集落

* 京都大学農学部水産学教室 (Dept. Fish., Kyoto Univ.).

数が 50 個以内の時はその全部，50 個を超える時は平板を適当に区切りその 1 区画の全部の集落を釣菌染色し検鏡により有芽胞桿菌，無芽胞桿菌および球菌の別を確かめ，それぞれの比率を求めた。また 30°C で約 2 週間貯蔵後の試料から得たもの（同一平板面上に生じた集落のうち，集落の形状および検鏡による細菌の形態から明らかに同種と認められるものは除外した）はさらに常法にしたがい BERGEY's manual[2] によつて分類し種名を同定した。

つぎに分離菌の有する腐敗力の 1 つの目安として同定された全菌種（全菌株のうち同一菌種に属するものは一菌株のみを選んだ）をサバ肉から調製した培地*にそれぞれうえ 30°C に放置し一定時間毎に培地中に生成された揮発性塩基量，ヒスタミン量および培地の pH を測定した。

実験結果および考察

I. 好気性細菌の種類： 試料中に含まれる細菌の種類は Table 1 に示すごとく貯蔵の前後をとわずほとんどの試料について有芽胞桿菌がきわめて多い。特に有芽胞桿菌のみが検出される試料が多いのは該製品が製造過程において 85°〜95°C で加熱処理されることから当然である。しかし熱に弱い無芽胞桿菌あるいは球菌も全試料の約 1/3 に当る試料から検出される。これらの熱抵抗の弱い細菌類の来源は明らかでないが，貯蔵前にこれらの細菌が検出されない製品は貯蔵後においても一般に無芽胞菌類は検出されない場合が多いことから貯蔵中にケーシングの結目などから細菌が混入することは清水ら[3] も指摘しているごとく少く製造過程の加熱不充分のため残存したかあるいは加熱後の冷却時に冷却水から混入したものであろう。

貯蔵後の各試料から分離した細菌を分類検索した結果は Table 1 に表示したごとく 8 種の有芽胞桿菌，3 種の無芽胞桿菌および 4 種の球菌に分類される。これらの細菌の種類と試料の悪変との関係を概観（前報[1] Table 1 参照）すると細菌数が 10^6 以上に増加しているにもかかわらず腐敗しているとは認められない試料（試料番号 1，4，9，16，17，26，31，36）から分離される細菌と細菌数も多く腐敗と断定される試料（試料番号 13，19，23，32，33，37，40，43）から分離される細菌との間には明らかな種類の相違が見られ，細菌の種類によつて魚肉ソーセージに対する腐敗力にかなり差異があることが想像される。すなわち前者からは主として *Bac. firmus*，*Bac. coagulans*，*Bac. kaustophilus*，*Bac. circulans*，*Bac. lentes*，*Bac. michaelisii* および *Flavo. invisibile* が検出されるのに対して後者からは *Bac. subtilis*，*Bac. pumilus* および *Sarcina flava* が検出される。腐敗が認められない試料から *Bac. subtilis*，および *Bac. pumilus* を検出する場合はいずれも肉中の細菌数が少ない試料に限られている。*Bac. subtilis* および *Bac. pumilus* は魚肉ソーセージの原料である澱粉中には最も普遍的に存在する細菌であるが[4,5]貯蔵中の増殖菌には一部の試料を除いてこの種の *Bacillus* があまり検出されないのは他の *Bacillus* に較べて魚肉ソーセージ類には増殖しにくい因子（たとえば添加合成保存料，合成殺菌料に対する抵抗性に差異がある）が存在するのかも知れない。

また試料番号 18，34，39，および 41 の試料は貯蔵後腐敗初期に達しているか，あるいは腐敗していると判断されたが細菌数は意外に少なく 10^5 以下であつた。これは細菌分離に用いた培地が不適当であるためにこれらの悪変の原因となつた細菌が明瞭な集落を形成し得なかつたか，あるいは貯蔵日数が相当長いために増加した細菌が分離計数の時期までに一部死滅したかまたは細菌の増加に比して速かに腐敗するなにか不明の原因があつたためであろう。

II. 分離菌の揮発性塩基生成作用とヒスタミン生成作用： 魚肉ソーセージ類は加熱処理され，かつケーシングによつて二次的外部汚染が防除されているため貯蔵中に増殖する細菌の種類はそれぞれの製品についてかなり限定され，しかも細菌の種類によつてその腐敗作用に著しい相違があることが I の結果から予想された。そこで 15 種の分離菌を供試菌としてそれぞれサバ肉懸濁液にうえ，30°C で培養してそれらの揮発

* サバ肉に 2 倍量の水を加えコッホ釜中で 1 時間加熱後ホモジナイズして得たサバ肉懸濁液を 300 ml. 容フラスコに 150 ml 宛分注し 10 lb で滅菌した。

Table 1. Relative numbers of bacteria present in fish sausages and species of isolated bacteria.

Sample* No.	Before storage: Per cent of spore-forming rods	Per cent of non-spore-forming rods	Per cent of cocci	After storage at 30°C for about two weeks: Per cent of spore-forming rods	Per cent of non-spore-forming rods	Per cent of cocci	Isolated bacteria	Organoleptic** test
1†	100	0	0	100	0	0	*Bac. firmus*	B
2	100	0	0	100	0	0	*Bac. pumilus*	B
3	25	75	0	29	71	0	*Bac. coagulans, Ach. eurydice, Flavo. invisibile, Flavo. sp.*	A
4†	100	0	0	100	0	0	*Bac. circulans*	B
5	100	0	0	100	0	0	*Bac. michaelisii*	A
6	100	0	0	100	0	0	*Bac. circulans*	B
7	100	0	0	100	0	0	*Bac. coagulans*	B
8	87	0	13	99	0	1	*Bac. coagulans, Micro. luteus*	A
9†	100	0	0	100	0	0	*Bac. michaelisii*	B
10	100	0	0	100	0	0	*Bac. coagulans* (predominant) *Bac. pumilus*	A
11	100	0	0	100	0	0	*Bac. firmus, Bac. subtilis*	A
12	—	—	—	90	0	10	*Bac. pumilus, Micro. epidermides*	A
13†	82	0	18	87	0	13	*Bac. subtilis, Micro. epidermidis*	D
14	100	0	0	100	0	0	*Bac. circulans*	A
15	100	0	0	100	0	0	*Bac. sp.*	A
16†	86	0	14	100	0	0	*Bac. coagulans, Bac. firmus*	A
17†	100	0	0	100	0	0	*Bac. coagulans, Bac. Kaustophilus*	A
18	100	0	0	100	0	0	*Bac. subtilis, Bac. pumilus*	D
19†	100	0	0	100	0	0	*Bac. subtilis, Bac. pumilus*	C
20	100	0	0	100	0	0	*Bac. coagulans*	A
21	100	0	0	100	0	0	*Bac. kaustophilus*	A
22	96	4	0	89	11	0	*Bac. coagulans, Flavo. marinum*	A
23†	100	0	0	100	0	0	*Bac. subtilis, Bac. michaelisii*	C
24	100	0	0	100	0	0	*Bac, coagulans*	B
25	100	0	0	100	0	0	*Bac. lentus, Bac. subtilis*	B
26†	100	0	0	100	0	0	*Bac. michaelisii, Bac. kaustophilus*	B
27	87	0	13	99	0	1	*Bac. coagulans, Micro. epidermidis*	A
28	100	0	0	97	0	3	*Bac. firmus, Micro. epidermidis*	B
29	—	—	—	100	0	0	*Bac. firmus*	A
30	100	0	0	100	0	0	*Bac. lentus*	B
31†	82	0	18	100	0	0	*Bac. coagulans* (predominant), *Bac. pumilus*	B
32†	40	15	45	52	0	48	*Bac. pumilus, Sarcina flava*	D
33†	—	—	—	100	0	0	*Bac. subtilis*	C
34	100	0	0	58	42	0	*Bac. subtilis, Bac. michaelisii, Bac. coagulans, Flavo. sp.*	C
35	80	0	20	100	0	0	*Bac. coagulans, Bac. firmus*	B
36†	100	0	0	100	0	0	*Bac. lentus*	B
37†	100	0	0	100	0	0	*Bac. subtilis*	C
38	100	0	0	100	0	0	*Bac. firmus*	B
39	100	0	0	100	0	0	*Bac. firmus, Bac. coagulans*	C
40†	90	10	0	80	20	0	*Bac. pumilus, Flavo. invisibile*	D
41	89	11	0	50	25	25	*Bac. sp., Flavo. marinum, Micro. epidermidis*	C
42	60	0	40	50	0	50	*Bac. sp., Micro. epidermidis, Micro. rhodochrous*	A
43†	100	0	0	100	0	0	*Bac. subtilis, Bac. circulans*	D
44	85	0	15	87	0	13	*Bac. circulans, Micro. epidermidis*	A
45	100	0	0	100	0	0	*Bac. pumilus*	D
46	100	0	0	100	0	0	*Bac. firmus*	B
47	83	0	17	100	0	0	*Bac. sp.*	B
48	100	0	0	100	0	0	*Bac. sp.*	B
49	100	0	0	100	0	0	*Bac. michaelisii, Bac. coagulans*	B

* Samples used were just the same as those in Table 1 in the previous paper[1].
† Counts of bacteria per g. of meats after storage at 30°C about 2 weeks were more than 10^8.
** A: Normal, edible. B: More or less faded and lost in flavour, but edible. C: Somewhat deteriorated, not edible. D: Putrefied.

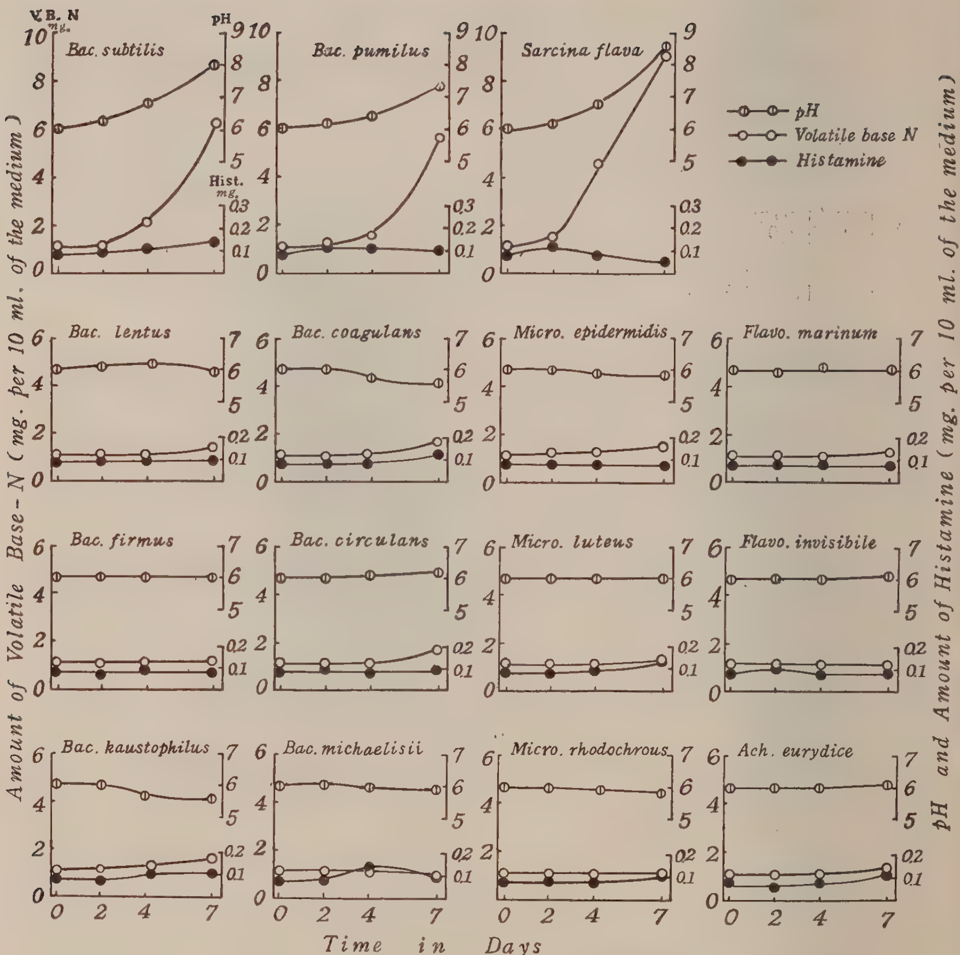


Fig. 1. Productions of volatile base and histamine by various bacteria isolated from fish sausages.

性塩基成作用，ヒスタミン生成作用および培地の pH の変化を調べた。その結果が Fig. 1 である。

Fig. 1 から明らかなごとく揮発性塩基生成作用は腐敗している試料から主として検出される *Bac. subtilis*, *Bac. pumilus* および *Sarcina flava* についてのみ顕著であるが，その他の細菌はいずれもその生成作用は極めて，微弱である。内山[6]は揮発性塩基量の増加を伴わぬ魚肉ソーセージの変敗を数多く観察しているが，これは上述のように魚肉ソーセージ中の細菌には揮発性塩基生成作用が微弱である細菌が多いためであろう。またヒスタミン生成作用は供試菌のいずれもきわめて微弱であるかあるいはその生成力を欠いている。清水[7]は包装して 60°C 以上で加熱した赤身魚肉は腐敗してもヒスタミンを生成しないと報告しているが，魚肉ソーセージも加熱処理されるためこのような場合の残存細菌はいずれもヒスチジン脱炭酸酵素を有しないのであろう。pH の変化は顕著な揮発性塩基生成作用を有する細菌の場合はアルカリ域に上昇し *Bac. coagulans*, *Bac. kaustophilus* および *Micrococcus epidermidis* の場合はいくらか酸性になるが，その他の細菌では pH の変動もきわめてわずかである。

以上のように魚肉ソーセージ類中の細菌には一般に腐敗力の弱い種類のものも多く，したがつて細菌が多数に増加した割に悪変しない場合も起るのであろう。しかし中には加熱に耐える腐敗力の強い *Bacillus* もあり，内山ら[6),8),9)] の指摘した軟化原因細菌である *Bac. circulans* とともに魚肉ソーセージの重要な悪変原因細菌としてある種の *Bacillus* に注意しなければならない。

終りに，本研究にあたり終始熱心な御指導を賜わりかつ論文を校閲していただいた当教室木俣正夫教授に深甚な謝意を表する。

要　　　約

1. 31 社 49 製品の市販魚肉ソーセージ類を 30°C で約 2 週間貯蔵して，その前後における肉中の好気性細菌について有芽胞桿菌，無芽胞桿菌および球菌の存在比を調べかつ貯蔵後の試料から分離されたものについては種名を同定した。さらにその全菌種について揮発性塩基生成作用およびヒスタミン生成作用を調べた。

2. 貯蔵の前後をとわずほとんどすべての試料から有芽胞細菌が優勢種として検出されたが全試料の約 1/3 から無芽胞細菌類も検出された。

3. 細菌が多数増加しているが腐敗していない試料と腐敗している試料から分離された細菌の種類の間には明らかな差異が認められた。すなわち前者からは *Bac. firmus*, *Bac. coagulans*, *Bac. kaustophilus*, *Bac. circulans*, *Bac. lentus*, *Bac. michaelisii* および *Flavo. invisibile*, 後者からは *Bac. subtilis*, *Bac. pumilus* および *Sarcina flava* が見出された。

4. 腐敗している試料から主として検出される *Bac. subtilis*, *Bac. pumilus* および *Sarcina flava* は顕著な揮発性塩基生成作用を示したが，その他の細菌はその生成作用が微弱であつた。また供試菌はいずれもヒスタミンを生成しないかあるいはしてもきわめてわずかであつた。

文　　　献

1) 赤松幹夫: 本誌, **25** (7), 545–548, 1959.
2) R. S. Breed, *et al*: "Bergey's manual of Determinative Bacteriology", 6 th Ed., 1948. The Williams & Wilkins Co., Baltimore.
3) 清水　亘・上野三郎・藤田真夫: 食研報告, No. **9**, 35～43, 1957.
4) 木俣正夫・河合　章: 本誌, **16** (12), 55～58, 1951.
5) 木俣正夫・曾々木淑子: 本誌, **22** (4), 269～272, 1956.
6) 内山　均・田中武夫: 本誌, **24** (2), 148～155, 1958.
7) 清水　亘・日引重幸: 本誌, **24** (11), 916～919, 1959.
8) 横関源延・内山　均・馬見塚利明: 本誌, **24** (2), 156～160, 1958.
9) 内山　均・横関源延・本橋光太郎: 本誌, **24** (5), 370～377, 1958.

魚肉ソーセージの腐敗細菌に関する研究—III.

好気的および嫌気的条件下における魚肉ソーセージから分離した *Bacillus* の発育とそれに伴なう培地の酸化還元電位の変化について

赤　松　幹　夫*

(1959 年 6 月 15 日受理)

BACTERIOLOGICAL STUDIES ON THE SPOILAGE OF FISH SAUSAGE—III.

AEROBIC AND ANAEROBIC GROWTH OF THREE KINDS OF *BACILLUS* WHICH ARE ISOLATED FROM FISH SAUSAGE

Mikio AKAMATSU*

In the previous works[1),2)] it has been reported that plenty of aerobic bacteria belonging to genus *Bacillus* are present in fish sausage and that fish sausage is in so anaerobic a condition as can hardly inhibit the growth of *Bacillus*. In tne present work the growth of those three kinds *Bacillus*, namely *Bac. subtilis*, *Bac. coagulans* and *Bac. firmus*, which have been isolated from fish sausage is studied under aerobic and anaerobic conditions, and at the same time are measured changes of the Eh of the media to be caused during their growth. Each of the *Bacillus* used for the purpose is cultured under three different conditions—aerated, aerobic stationary and anaerobic. The anaerobic culture is made by means of ROSENTHAL method. For the aerobic cultures, both methods aerated and stationry are used in order to vary the amount of oxygen to be put into the media, either method being usually taken for the purpose.

The results obtained are shown in Tables 1~3 and Figs. 1~3, which may be summarized as follows:

All the used bacteria can grow well in the aerobic conditions, though their growth is predominant in the aerated culture, but less so in the stationary one. The germination of spores takes place in *Bac. subtilis* and *Bac. coagulans* either in the aerobic or anaerobic condition, but *Bac. firmus* hardly germinates spores in the anaerobic condition. In the anaerobic condition *Bac. subtilis* seems to be able to grow vegetatively to some extent, though its sporulation seems difficult in it. As for *Bac. coagulans*, no such thing occurs.

As *Bac. subtilis* grows, the Eh value of the medium is lowered in the aerobic culture, but raised in the anaerobic one, consequently some definite range (−100 ~ −150 m volt) is reached regardless of the cultural method to be used. As *Bac. coagulans* grows, the Eh value of the medium is lowered to be raised again. When *Bac. firmus* begins to grow, the Eh value is unchanged, but when it has reached the maximum of its growth, the Eh value is lowered to some definite degree. As to latter two kinds of bacteria, the Eh value in the aerated culture is always higher than that in the aerobic stationary culture, and these values are not lowered into minus range throughout their growing period.

著者はさき[1),2)]に市販魚肉ソーセージ中の細菌数および，その種類について報告した。

本食品はケーシングされている理由からその腐敗細菌としては従来嫌気性細菌に主として注意が払われて来たようである。しかし市販魚肉ソーセージ中には好気性細菌である *Bacillus* が多量に残存し，かつこれ

* 京都大学農学部水産学教室 (Dept. Fish., Kyoto Univ.).

らの *Bacillus* の発育を阻止しうる程本食品は嫌気的状態でないことを著者はすでに明らかにした。最近内田[3]らも軟化原因細菌として *Bac. circulans* を指摘している。*Bacillus* は本来は好気性であるから嫌気的条件下で発育する場合にはその発育や代謝作用が好気的条件下における場合とは異なることが予想される。ROTH[4]によれば *Bac. anthracis* や *Bac. globigii* の胞子は嫌気的条件下でも発芽はしうるが，その後の発育や胞子形成は行なわれない。これらの点をさらに明らかにすることは魚肉ソーセージが他の無包装食品とは異なつていることと関連して興味ある問題である。また細菌の発育と培地の酸化還元電位との関係については HEWITT のすぐれた綜説[5]があるが *Bacillus* についての知見は未だ少ない。

そこで魚肉ソーセージから分離した3種の *Bacillus* を供試菌として用い好気的および嫌気的条件下における細菌の発育状態とその発育に伴なう培地の酸化還元電位の変化について実験を行なつたので報告する。

実験方法

1. 供試菌*

（1） *Bacillus subtilis*　S 14

（2） *Bacillus coagulans*　S 11

（3） *Bacillus firmus*　S 18

上記各細菌を普通寒天斜面で 35°C，1〜2 週間培養し，充分胞子を形成させた後生理的食塩水で集菌，3 回洗滌後生理的食塩水に再懸濁して無菌的にブレンダーでホモジナイズし，さらに 48°C で 18 時間自己消化させて完全に胞子塊を消失させ，65°C，30 分間加熱処理を加えたものを移植用の胞子懸濁液とした。

2. 培養基： ペプトン 8g，肉エキス 3g，食塩 5g，水 1*l*，pH 7.0．前記組成を有する培養基を 100ml 容フラスコに 49ml 宛分注し，10*lb* で滅菌し，別に滅菌した 25% ブドウ糖液を 1ml 宛無菌的に加えた。なお嫌気培養に用いる培養基にはさらに初期 Eh をできるだけ低くする目的で培養直前に 100mg の Vitamin C を別に加えた。

3. 培養法： 各培養基に胞子懸濁液の一定量を加え通気培養，好気的静置培養および嫌気培養をそれぞれ 35°C で行なつた。嫌気培養は嫌気ビンを用いて脱気後，金属クロームに硫酸を作用させる ROSENTHAL 法によつた。

4. 測定法： 一定時間毎に培養基の Eh，pH，Optical density を測定し，併せて培養基中の生菌数および生胞子数を計数した。

Eh は白金電極と甘汞電極を組合せて電位差計で，pH はガラス電極 pH 計で，Optical density は 480 mμ の波長を用いてベックマン光電比色計でそれぞれ測定した。生菌数および生胞子数**は稀釈法により寒天平板上に発生した集落数から計数した。なおこの際用いる稀釈水としては STRAKA[6] の指示にしたがい稀釈中に細菌が死滅するのを防ぐため 0.1% ペプトン水を用いた。

実験結果および考察

Bac. subtilis について得られた結果を Table 1 および Fig. 1 に示す。

生胞子数の変化から明らかなごとく本菌の胞子の発芽はいずれの培養法によつても 8 時間後には最初の胞子数の約 90% が発芽する。すなわち胞子の発芽に関しては嫌気的および好気的各条件下における相違はほとんど認められない。しかし一方，栄養体からの胞子形成は嫌気的条件下では著るしく阻害される。また胞子が発芽した後の栄養体発育は Optical density および生菌数から明らかなごとく培養時の酸素量に影響され酸素量が少ない程その増殖率は小さく，かつ総細胞生産量は減少し，嫌気培養では通気培養の約 1/10 以下に過ぎない。

* S 14 は特に腐敗力の強い菌株であり，S 11，S 18 はいずれもあまり腐敗力の強くない菌株である[2]。

** 生菌数は胞子および栄養体を含めた総数である。生胞子数は 65°C，30 分間の加熱処理を行ない栄養体を殺したものについて計数した。(生胞子数の減少から発芽率が計算できる[4])。

Table 1. Growth of spores of *Bac. subtilis* under aerobic and anaerobic conditions.

Viable spore count

Incubation Condition	0	3	8	12	24	44 hours
Aerated culture	1.7×10^4	7.3×10^3	1.9×10^3	—	9.2×10^3	1.5×10^6
Aerobic stationary culture	1.7×10^4	8.2×10^3	1.8×10^3	—	3.5×10^3	2.1×10^6
Anaerobic culture	1.7×10^4	1.2×10^4	1.6×10^3	—	6.9×10^2	2.0×10^3

Viable total count

Incubation Condition	0	3	8	12	24	44 hours
Aerated culture	1.7×10^4	—	—	2.0×10^8	5.4×10^8	2.3×10^7
Aerobic stationary culture	1.7×10^4	—	—	8.4×10^7	1.8×10^8	2.0×10^6
Anaerobic culture	1.7×10^4	—	—	4.3×10^7	8.0×10^7	5.3×10^4

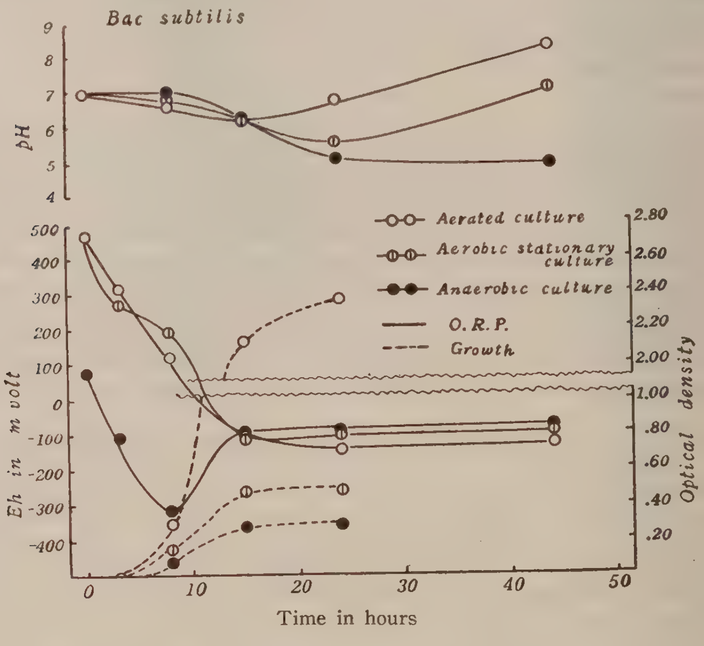


Fig. 1. Aerobic and anaerobic growth of *Bacillus subtilis*, and changes of Eh and pH in the culture media.

培地の pH は好気的培養である通気培養および静置培養でははじめ酸性となるが，その後次第にアルカリ性に変化する。前報[2]で述べたごとく本菌は強力な揮発性塩基生成作用を有するため糖の分解によつて生じた酸が次第に中和されるのであろう。しかし嫌気培養の場合は著るしく異なり培地の pH は次第に酸性となつたままアルカリ性にはならない。このことは嫌気的条件のため揮発性塩基生成作用が阻害されるのか，あるいは他の原因によるかは今後検討しなければならない。

培地の Eh は通気培養および静置培養のような好気的条件下では培養開始と同時に降下しはじめ発育がその最高期に達する頃最低値（通気培養で −150 m volt，静置培養で −100 m volt）となり，その後はその値はほぼ変らない。嫌気培養では培養後次第に Eh は降下し，約 10 時間後に −300 m volt 附近に達する。しかしここまでの Eh の変化は菌の発育によるためではなく，嫌気ビン中における水素ガスの発生に起因するものである。すなわち同じ嫌気ビン中に置かれた細菌をうえていない培養基が同じような Eh の変化をたどつて約 10 時間後に −300 m volt に達し，その後はこの値を保つていることから充分考えられる。しか

し菌の発育が対数的発育期に入る頃には逆に Eh は上昇しはじめ，その最高発育期に達する頃 −90 m volt となり，その後はあまり変らない。このように *Bac. subtilis* では培地の Eh は発育が最高期に達する頃には培地の酸素条件の如何によらず，ほぼ一定の範囲の値（−100〜−150 m volt）となるが，この値は培養が好気的である程幾分低い。これは菌の発育が良く，したがつてその還元作用も幾分大きいためではなかろうか。

Bac. coagulans について得られた結果を Table 2 および Fig. 2 に示す。

胞子の発芽は *Bac. subtilis* の胞子と同様に培養時における酸素条件には無関係であるが，その発芽率はきわめて悪く 10 時間後においても僅かにはじめの胞子数の 10% 内外が発芽するに過ぎない。また生菌数および Optical density の値から明らかなごとく本菌は嫌気的条件下ではその栄養体発育が著るしく阻害される。好気的培養においては栄養細胞が再び胞子を形成する前に死滅し，しかもその死滅の割合は通気培養

Table 2. Growth of spores of *Bac. coagulans* under aerobic and anaerobic conditions.

Viable spore count

Incubation Condition	0	4	10	26	48 hours
Aerated culture	2.0×10^3	2.0×10^3	1.7×10^3	—	9.0×10^2
Aerobic stationary culture	2.0×10^3	2.0×10^3	1.8×10^3	—	5.0×10^2
Anaerobic culture	2.0×10^3	1.8×10^3	1.8×10^3	—	4.2×10^2

Viable total count

Incubation Condition	0	4	10	26	48 hours
Aerated culture	2.0×10^3	—	—	2.3×10^6	9.0×10^2
Aerobic stationary culture	2.0×10^3	—	—	7.0×10^6	7.0×10^4
Anaerobic culture	2.0×10^3	—	—	1.5×10^4	7.3×10^2

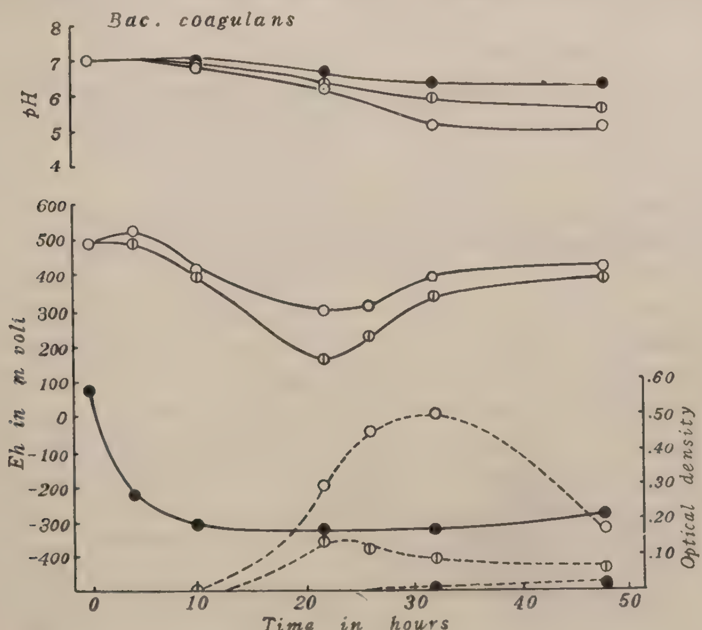


Fig. 2. Aerobic and anaerobic growth of *Bacillus coagulans*, and changes of Eh and pH in the culture media.

の場合に特に著るしい。

培地の pH はいずれの場合でも次第に酸性に傾き，その変化の程度は菌の発育が良好である程すなわち好気的である程大きい。

培地の Eh は好気的培養では培養開始後間もなく降下しはじめ，発育が対数的発育期の後半乃至最高発育期に達する頃最低値（通気培養で +300 m volt，静置培養で +150 m volt）となり，その後再び上昇する。しかしこの最低値は *Bac. subtilis* の場合に比してかなり高くその値は全期を通じてマイナス域にはならない。また菌の発育が良好である通気培養では通気の影響のためか静置培養におけるよりも常に培地の Eh は高いことも *Bac. subtilis* の場合とは異なつており，本菌の有する還元酵素系の活性は弱いと考えられる。嫌気培養では胞子が発芽するだけでその後の栄養体発育はほとんど行なわれないため発育に伴なう Eh の変化はなく Fig. 2 に示した値は未移植の培地が示した値とほとんど同じである。

Bac. firmus について得られた結果を Table 3 および Fig. 3 に示す。

Table 3. Growth of spores of *Bac. firmus* under aerobic and anaerobic conditions.

Viable spore count

Incubation Condition	0	4	10	20	25	48 hours
Aerated culture	3.5×10^4	3.5×10^4	2.5×10^4	1.5×10^4	—	1.4×10^4
Aerobic stationary culture	3.5×10^4	3.4×10^4	3.0×10^4	2.1×10^4	—	1.6×10^4
Anaerobic culture	3.5×10^4	3.5×10^4	3.5×10^4	3.5×10^4	—	3.4×10^4

Viable total count

Incubation Condition	0	4	10	20	25	48 hours
Aerated culture	3.5×10^4	—	—	—	2.1×10^6	1.6×10^6
Aerobic stationary culture	3.5×10^4	—	—	—	4.0×10^6	4.0×10^5
Anaerobic culture	3.5×10^4	—	—	—	3.4×10^4	3.6×10^4

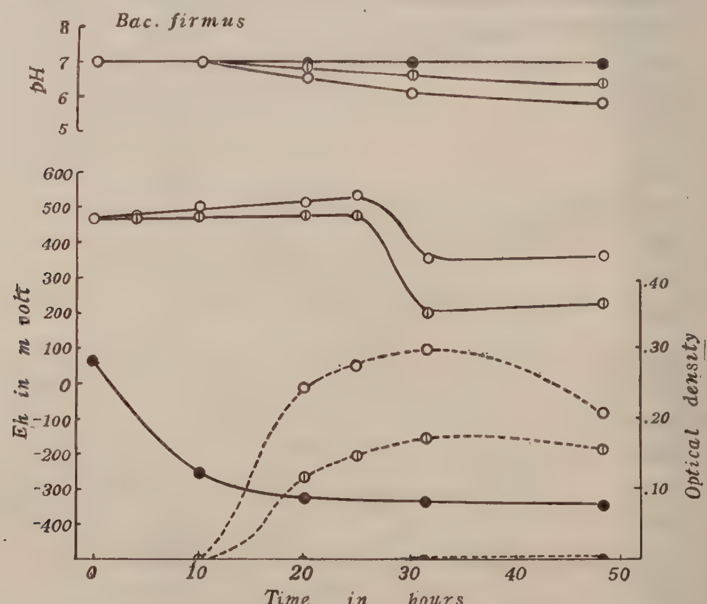


Fig 3. Aerobic and anaerobic growth of *Bacillus firmus*, and changes of Eh and pH in the culture media.

生菌数および Optical density の値から明らかなごとく本菌は前2菌種と異なり嫌気培養においては胞子の発芽が阻害され，したがつて発育し得られない。しかし好気的条件下では通気培養でも静置培養でも同様に 20 時間後に最初の胞子数の 50% 内外が発芽する。発芽後の栄養体細胞の発育は前2菌種と同様に静置培養より通気培養において良好である。また栄養体から胞子が形成されたかどうかは得られたデータからはその証拠が見出せない。

培地の pH は菌が発育するにつれて酸性となり，その変化の傾向は *Bac. coagulans* の場合と同様であるが，その程度は小さい。

培地の Eh は菌の発育が開始されても変化なく（むしろごく僅かに上昇の傾向がうかがわれるが，この理由は明らかでない），菌の発育が最高発育期に達した後にはじめて一定値（通気培養で +350 m volt，静置培養で +200 m volt）まで降下し，その後はほぼその値を保つている。

Bacillus 属は好気性細菌であるからその発育は酸素の供給量の多い通気培養において最も良好であることは勿論であるが嫌気的条件下における発育は *Bacillus* の種類によりかなり差異があり，i）胞子の発芽さえも阻害されるもの，ii）発芽はするが，その後の栄養体発育は阻害されるもの，iii）栄養体発育はできるが胞子形成は阻害されるもの，の3つに分けられることは以上の実験から明らかである。このことが直ちに偏性好気性，通性嫌気性，およびこの2者の中間的性格を有するものという分類と一致するかどうかはさらに多くの菌株について検討を加えねばならぬが重要な関連があるのではあるまいか。

上述のように *Bac. coagulans* および *Bac. firmus* は −300 m volt の嫌気的条件下ではほとんど発育し得られないが魚肉ソーセージ中ではよく発育しうることから魚肉ソーセージの Eh は少なくとも −300 m volt よりはかなり高いはずである。事実横関[7]は製造直後の魚肉ソーセージの Eh を測定し −90 〜 −250 m volt の範囲の値を記録し，かつ塩酸ゴムケーシングの場合には貯蔵中に酸素の侵入によつて，さらにその値が上昇することを観察している。更に3種の供試菌の発育による培地の Eh の最低降下値およびその降下の様子は菌種によつてそれぞれ異るが一般に clostridium によつて得られた結果[8],[9]と比較して最低値は高くその降下も緩慢である。

終りに，本研究にあたり終始熱心な御指導を賜わり，かつ論文の校閲をしていただいた当教室木俣正夫教授に深甚な謝意を表する。

要　　約

1. 魚肉ソーセージから分離した3種の *Bacillus*—*Bac. subtilus*, *Bac. coagulans*, *Bac. firmus*—の胞子を用いて，それぞれ通気培養，好気的静置培養および嫌気培養を行ない発育とそれに伴なう培地の酸化還元電位の変化を研究した。

2. 培養時の酸素量の多少と発育との関係は細菌の種類によつて異なり，嫌気的条件下においては *Bac. firmus* の胞子は発芽さえ阻害され，*Bac. coagulans* の胞子は好気的条件における場合と同様に発芽するが，その後の栄養体発育は著るしく阻害され，*Bac. subtilis* の胞子は好気的条件下と同様に発芽し，さらに栄養体発育も好気的条件下よりも劣るとはいえ可能であるが胞子形成は著るしく阻害された。

3. 細菌の発育に伴なう培地の酸化還元電位の変化の様相は細菌の種類によつて異なり，*Bac. subtilis* では発育するにつれて好気培養では Eh は降下し，嫌気培養では逆に上昇して一定時期以後においては培養法の如何によらずほぼ一定（−100 〜 −150 m volt）の範囲の値となつた。*Bac. coagulans* では発育するにつれて Eh は降下し，一定時期後再び上昇した。*Bac. firmus* では発育開始後でも Eh は変化せず発育最高期に達した後はじめて一定値まで降下し以後その値を保つた。またこの2菌種では通気培養の場合が静置培養にくらべて常に Eh は高く，かつ発育の全期間を通して Eh はマイナスの域にまで降下しなかつた。

文　　献

1) 赤松幹夫: 本誌, **25** (7), 545～548, 1959.

2) 赤松幹夫: 本誌, **25** (7), 549～553, 1959.

3) 内山 均・田中武夫: 本誌, **24** (2), 156～160, 1958.

4) N. G. ROTH and D. H. LIVELY: J. Bact., **71** (2), 162～166, 1956.

5) L. F. HEWITT: "Oxidation-Reduction Potential in Bacteriology and Biochemistry" 6th Ed. p. 95～136, 1950. E. & S. Livingstone Ltd., Edinburgh.

6) R. P. STRAKA and J. L. STOKES: Appl. Microbiol., **5** (1), 21～25, 1957.

7) 横関源延: 本誌, **24** (9), 765～770, 1959.

8) M. KIMAIA and M. AKAMATSU: Memoirs Coll. Agr. Kyoto Univ., **Fisheries Series**, 100～106, 1958.

9) H. STOLP.: Arch. Microbiol., **21**, 293～306, 1955.

アサクサノリ cytochrome c の二・三の性質*

橋 本 周 久・益 弘 幾 子

(1959 年 6 月 19 日受理)

SOME PROPERTIES OF CYTOCHROME C FROM *PORPHYRA TENERA*

Kanehisa Hashimoto and Ikuko Masuhiro**

Cytochrome c (Cyt) was purified from a red alga, *Porphyra tenera*, by the procedure shown in Fig. 1. This preparation containing 0.474% iron proved to be homogeneous electrophoretically at various pH's. The visible absorption spectra of this Cyt showed remarkable characteristics, especially in reduced form: in $0.1\,M$ acetate buffer of pH 6.0, the extinction coefficient of α maximum (at 553 mμ) was found to be only about 3/4 of that of vertebrate[11], in addition to that the whole spectrum shifted towards longer wavelengths than that of vertebrate as pointed out already[1]; in $0.2\,N$ NaOH, the whole spectrum was found to be very similar to that of vertebrate, both in the positions and in extinction coefficients of maxima or minimum, and the extinction coefficient of α maximum was higher than that in the acetate buffer (Fig. 2 and Table 1). Such a large difference of spectrum as caused by the change in pH seems not yet to have been reported for Cyt from any source. The pH–mobility curve of this protein differed also considerably from that of horse[14] as shown in Fig. 3. The isoelectric point of this Cyt was found to be around pH 4, which forms a marked contrast to vertebrate Cyt (above pH 10)[10,14].

海藻のチトクローム c (Cyt と略) についての研究は 1935 年薬師寺ら[1] が種々の海藻に動物源の Cyt と類似の吸収スペクトルを示す物質の存在することを見出し，アサクサノリから硫安塩析等によつてその粗標品を得たとの報告が最初である。同氏ら[2] はついでその Cyt 標品がスペクトルから判断して2つの成分 (c および c_1) より成る錯化合物であろうとしたが，その後は絶えて久しく この種の研究が見られなかつた。しかしここ数年来クロレラ等の光合成機序の研究に関連して海藻 Cyt は再び注目を浴びるに至り，中でも加藤[3,4] はイオン交換樹脂によつてかなり高度に精製したアサクサノリ Cyt について幾つかの特異性を明かにし，その酸化還元電位が哺乳類のものより大分高いこと，哺乳類 Cyt の代りにノリ Cyt を加えた酸化酵素系ではその活性の著しく低いこと，等電点が酸性側にあること等を報じている。著者らも偶々アサクサノリ Cyt を研究中であつたので以下現在までに行つた実験の結果を報告する。

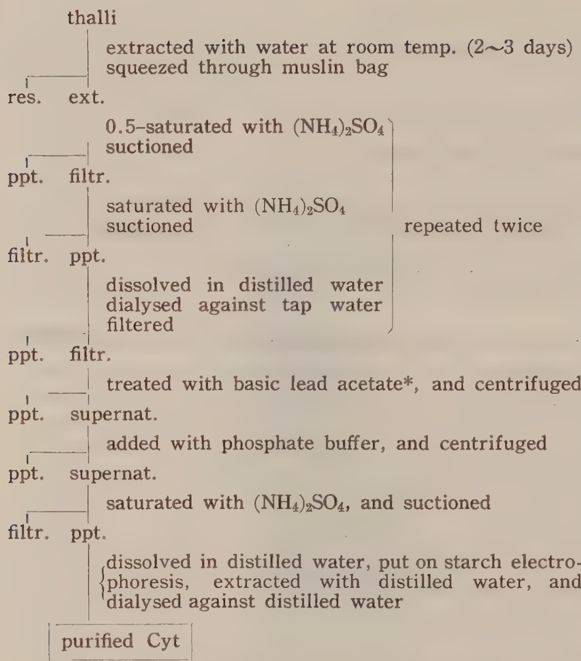
実 験 の 部

材料: 昨年 11 月から本年 2 月にかけて東京湾沿岸（大森，千葉）で採取した新鮮なアサクサノリを使用した。

Cyt 精製法: 模式的に Fig. 1 に示した。藻体 1kg 当り 1l の水道水を加え防腐のため toluol 少量を加えて時々攪拌しつつ室温に 2~3 日放置後布袋で濾す。この抽出液に硫安を加えて 50% 飽和にすると phycobilin 類が相当量塩析されるので吸引濾過によつて除き濾液を硫安で飽和して溶存色素蛋白をことごとく沈澱せしめる。この沈澱を吸引濾過によつて集め蒸溜水に溶解，濾過後塩析操作をもう一度繰返してから水道水に透析し硫安を除く。ついでこれを塩基性醋酸鉛 (LAB) 処理に付したが同処理に先立つてその適

* 本報告は昭和 34 年 4 月 1 日，日本水産学会年会において講演した。

** 東大農学部水産化学研究室 (Lab. Fish. Chem., Fac. Agr., Univ. Tokyo).



* The amount to be used must be previously determined by a test (see the text).

Fig. 1. Schematic procedure for purification of *Porphyra tenera* cytochrome c.

正使用量を決めるためつぎのごとくした。すなわち一系列の小試験管に前記透析済みの溶液一定量づつを秤取し，種々の量の 10% LAB 溶液を加えてよく攪拌，遠心分離し，上清中の過剰の鉛を phosphate buffer (0.2 *M*, pH 7.0) 添加によつて除き遠心分離した。この上清を $Na_2S_2O_4$ で還元し Cyt の吸収極大 (553, 522 mμ) および極小 (538 mμ) での吸光値を測定し，前者の後者に対する吸光比を最も高くするに要する最小量を以つて LAB の適正使用量とした。不純物 (phycobilin 等) 混入の度合によつてこの量は異るが，本実験においては通常前記の溶液 1 m*l* に対し 0.03～0.05 m*l* であつた。かくしてきめた量の LAB 溶液によつて粗 Cyt 溶液を処理， phosphate buffer を加えて鉛を除いた後，硫安で飽和して色素を沈澱せしめる。この沈澱を極く少量の蒸溜水に溶解，再び透析によつて塩を除く。しかる後 veronal buffer (イオン強度 0.1, pH 8.6) を用い低温室 (約 4°C) 内で澱粉電気泳動[5),6)] (カラム，巾 20×高さ 10×長さ 400 mm) に付した。4 mA, 100 V で1晩泳動すると Cyt を負荷した帯はかなり拡がりながら陽極側に移動した。澱粉から抽出して還元後のスペクトルを検べると比較的遅い部分は α-吸収帯に明らかな肩が認められた（これは薬師寺ら[2)] のいう錯化合物かも知れない)。 そこで泳動速度の比較的大きい部分のみ水抽出し，蒸溜水ついで再蒸溜水に対して透析の上，これを Cyt 試料溶液として以下の分析に供した。

分析方法: Fe 含量‥‥供試溶液一定量中の Fe を *o*-phenanthroline 法[7)] により，同じく乾物重量を 105°C 乾燥によつて測定，これらの値から Cyt の Fe 含量を算出した。

吸収スペクトル‥‥0.1 *M* acetate buffer (pH 6.0) および 0.2 *N* NaOH (pH 約 12.5) 中の酸化還元両型のスペクトルを主に可視部について Beckman spectrophotometer model DU によつて測定した。

電気泳動‥‥イオン強度 0.2 の種々の pH (3～8) の acetate および phosphate buffer 中の電気泳動的挙動を Tiselius 装置 (日立 D 型) によつて 4°C で測定した。

結果と考察

Cyt の精製法: 精製法のうち抽出，硫安塩析の段階は薬師寺ら[1)] の方法を踏襲したものである。 しかし同氏らの用いている爾後の操作である acetone 処理を行なつても吸光比から推してさ程高純度のものが得られないばかりか Cyt の多大の損失を招くことが往々にしてあつた。そこで動物 Cyt の場合に倣つて陽イオン交換樹脂 Amberlite XE-64 への吸着を試みたが pH 5 以下で bufferise した樹脂を用いて始めて弱い吸着が見られるに過ぎなかつた（これは後述のごとくノリ Cyt の等電点のきわめて低いことに基く)。よつて種々検討の末，適当量の LAB を用いるのが非常に効果的であることを知つた。ただし LAB の過剰の使用はCyt の収量を低下せしめるのみであり注意を要する。なお時として抽出液に粘質物がかなり溶出して

来ることがあるが，斯様な場合には LAB 処理に先立ち，つぎのごとくして粘質物を除くのがよい。すなわち活性の強い alumina を用いて Cyt を吸着せしめ（phycobilin も一部吸着される）た上，これを水洗いすれば粘質物はほぼ完全に除きうる。吸着された色素は弱アルカリ性の phosphate buffer で溶離し透析によつて phosphate を除き，しかる後 LAB 処理を行なう。

前記の精製法によつて得た Cyt 標品は pH 4～8 において電気泳動的に均一であつた。

Fe 含量: 本 Cyt 標品の Fe 含量は 0.474% であつた。これはイオン交換樹脂を用いて精製した脊椎動物 Cyt での比較的高い値[8-10]に匹敵する。この高含量の Fe を有つ Cyt 標品が交換樹脂を全く用いずに得られることは注目に値する。なおこの Fe 含量から計算されるノリ Cyt の最小分子量は 11,800 である。

吸収スペクトル: 2種の溶媒中での酸化還元両型の可視部スペクトル並びに吸収極大，極小での吸光係数および吸光比を Fig. 2 および Table 1 に示した。ノリ Cyt のスペクトルは二・三の点で既知の Cyt と明らかに相違している。先ず acetate buffer 中では既に薬師寺ら[1]も指摘しているごとく還元型のスペクトルは全体として動物源のもの[11]に比べて 2～3 mμ 長波長側に偏している。ただし近紫外部ではかかる現象がみられない。つぎに α 極大の吸光係数がかなり小さく脊椎動物[11] (ε＝26～28) の 3/4 程度に過ぎぬことは注目に値する。このことは同波長での吸光値を利用してノリ Cyt を定量しようとするとき注意を要する点である。β 極大，極小の吸光係数にはかかる大きな特異性は見られない。γ 極大は脊椎動物[11] (ε＝143) より多少高い。酸化型では逆にスペクトル全体が動物のものより幾分短波長側に偏している。なお Cyt の純度の目安として用いられる吸光比 $E_{553m\mu}$(還元型)/$E_{280m\mu}$(酸化型) は 0.91 であり，一般の脊椎動物での値が 1.0 以上[10,12]であるのに比べてやや低かつた。

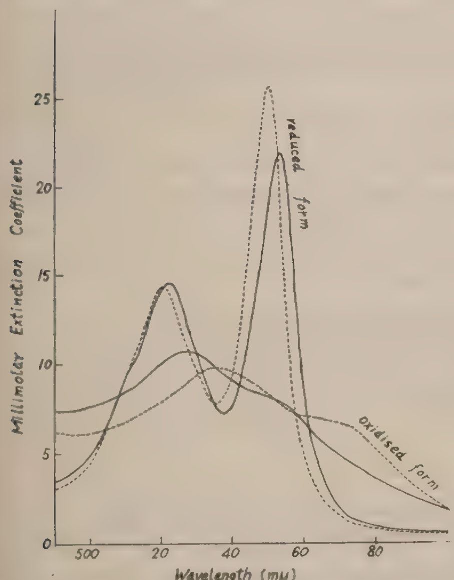


Fig. 2. Absorption curves of *Porphyra tenera* cytochrome c in acetate buffer (0.1 *M*, pH 6.0, full-lines and in NaOH (0.2 *N*, about pH 12.5, dotted-lines).

Table 1. Spectrophotometric constants (ε) (c=1 m*M* per *l*., d=1 cm.) for *Porphyra tenera* cytochrome c, calculated upon Fe basis.

Form	Solvent	Acetate buffer 0.1*M*, pH 6.0 Wave-length	ε	0.2 *N* NaOH Wave-length	ε
Reduced	α-max.	553 mμ	22.0	550 mμ	25.7
	min.	538	7.4	535～6	7.7
	β-max.	522	14.7	521	14.6
	γ-max.	415	157	..	..
	Extinction ratio:				
	$\varepsilon_{\alpha-max.}/\varepsilon_{min.}$	2.96		3.35	
	$\varepsilon_{\beta-max.}/\varepsilon_{min.}$	1.98		1.90	
	$\varepsilon_{\gamma-max.}/\varepsilon_{\alpha-max.}$	7.12		..	
	$\varepsilon_{\alpha-max.}/\varepsilon_{280}$*	0.91		..	
Oxidised	max.	525～6	10.8	534～6	9.8

* ε_{280}, in oxidised from.

つぎにアルカリ溶液中では還元型スペクトルは acetate buffer の時より 2～3 mμ 短波長側に移行し吸収極大，極小の位置は動物源のものに全く一致するのみか，α 極大の吸光値もかなり増大した。一般に動物の Cyt では pH の相違によつて，かかる大きな変化がみられない[13]。酸化型では脊椎動物のものとの類似が著るしかつた。

電気泳動: pH-易動度曲線を Fig. 3 に示した。動物 Cyt の例として馬のそれ[11]を比較のために掲げた。本図から明らかなようにノリ Cyt の電気泳動的性質は甚だ特異的である。等電点はきわめて低く pH 4 付

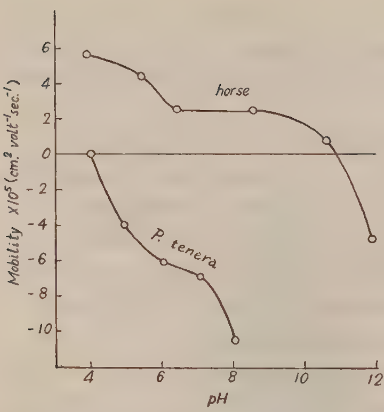


Fig. 3. pH-mobility curves of cytochrome c of *Porphyra tenera* and horse[14].

近にあり，これは pH 7 での沪紙泳動でノリ Cyt が動物 Cyt と反対に陽極に泳動したとの報告[3]とも一致する。Cyt は一般に等電点の高い（pH 10〜11）塩基性蛋白であることが知られており，ごく例外的に銹菌[15]のごとく等電点が pH 7 前後にあるものもあるが，ノリのように低い等電点の例は珍らしい。なお buffer への透析中 pH 4 以上の場合には全く沈澱を生じなかつたのに反し，pH 3 の場合には相当量が変性，沈澱し，色素濃度低下のため正確な易動度を測定し得なかつたがきわめて大きい速度で陰極側へ泳動するのが認められた。

溶解性その他：一般に動物源のものは溶解度高く[16]，やや低いとされる魚類でもマグロ Cyt は硫安飽和溶液中において酸化還元両型のうち前者は多少溶存した。これに対し，ノリでは両型とも完全に塩析される点やや差異が認められた。つぎに Cyt が安定な蛋白であることは良く知られているが，ノリ Cyt もこの例に洩れず phosphate buffer (0.1 *M*, pH 7.0) に溶かし沸騰水浴中 10 分間加熱しても全く凝固もスペクトルの変化（可視部）も生じなかつた（マグロ Cyt でも同様であつた)。

要　　約

（1） アサクサノリから硫安塩析，塩基性醋酸鉛処理，澱粉泳動等によつて電気泳動的に均一な Cyt (Fe 0.474%) を精製した。

（2） 本 Cyt は吸収スペクトル並びに電気泳動的性質において脊椎動物の Cyt とかなり異なることを明らかにした。

終りに臨み，本実験実施に当り終始御助言並びに御鞭撻を賜わつた松浦文雄教授および生ノリ入手に当り御助力を頂いた新崎盛敏助教授に深謝する。

文　　献

1) YAKUSHIJI, E., and OKUNUKI, K.: *Acta Phytochim.* **8**, 328 (1935).
2) YAKUSHIJI, E., and OKUNUKI, K.: *Proc. Imp. Acad.* **17**, 265 (1941).
3) 加藤　栄：第 31 回日本生化学会総会講演（昭和 33 年 7 月，札幌）.
4) KATOH, S.: *J. Biochem.* (Japan) **46**, 629 (1959).
5) KUNKEL, H. G.: "Methods of Biochem. Analysis", Intersci. Publ., New York (1954), Vol. 1, p. 141.
6) 小林恒夫：日農化 **31**, 865 (1957).
7) DRABKIN, D. L.: *J. Biol. Chem.* **140**, 387 (1941).
8) PALÉUS, S.: *Acta Chem. Scand.* **4**, 1024 (1950).
9) DE BARBIERI, A. and SCEVOLA, M. E.: *Boll. soc. ital. biol. sper.* **31**, 688 (1955).
10) 松浦文雄・橋本周久：本誌，**24**, 216 (1958).
11) LEMBERG, R., and LEGGE, J. W.: "Hematin Compounds and Bile Pigments", Intersci. Publ., New York (1949).
12) HAGIHARA, B., MATSUBARA, I., SEKUZU, I., HORIO, T., and OKUNUKI, K.: *Nature* **178**, 630 (1956).
13) PAUL, K.-G.: "The Enzymes", Academic Press, New York (1951), Vol. II, Pt. 1, p. 357.
14) TINT, H., and REISS, W.: *J. Biol. Chem.* **182**, 385 (1950).
15) NEILANDS, J. B.: *J. Biol. Chem.* **197**, 701 (1952).
16) 萩原文二：蛋白質・核酸・酵素，**1**, 57 (1956).

γ線照射による水産物の油脂の変化とその防止について (予報)

外山健三・平野敏行・山鹿　宏

(1959 年 6 月 25 日受理)

THE γ-RADIATION OIL DETERIORATION OF MARINE PRODUCTS AND ITS PREVENTION (PRELIMINARY WORK).

Kenzo Toyama, Toshiyuki Hirano and Hiroshi Yamaga*

Regarding the elongation of storage life of marine products, the authors evidenced an antioxidant (BHA) and electro-smoke solution[8] in respect of their effect of protecting salted-and-dried saurels (moisture, 68～70%) from undergoing radiation-deterioration of oil. The fish products were exposed at room temperature to a gamma ray from ^{60}Co (1000 curies).

The results obtained confirm that the oil oxidation caused by irradiation can be substantially evaded whether the antioxidant is present or not, when the products are kept packed in evacuated polyethylene bags.

Although development of the so-called radiation-odor could little be suppressed neither by addition of antioxidant nor by vacuum packing, the antioxidant did positively hinder not only the accumulation of peroxide-oxygen prior to irradiation but the oil-oxidation under radiation. The application of smoky odor of electro-smoke solution was fairly effective in neutralizing the offensive odor.

γ線照射による食品貯蔵については，多くの研究がその可能性を十分認めているものの，油脂を含む食品では，照射により特有の臭気を発生するために，実用上支障を来す場合が多い。この照射臭に関する報告のあるものによれば，その一部分は照射によつて油脂から生成した過酸化物，カルボニル化合物[1)2)3)]等が，蛋白質中の硫黄化合物と反応して生じた縮合物であろうといわれる。

著者等はγ線照射による水産物の保蔵に際して，その油脂がうける影響を検討するにあたり，まず塩乾品についてγ線照射による試料油脂の化学的性質と臭の変化を定性的に検討したので，その結果を報告する。

実　　験

試料の調製： 比較的新鮮なマアジ *Trachurus japonicus* (Temm. & Schl.) の頭部，内臓，中骨を除去したものを 5% 食塩水に 16 時間浸漬した後，約5時間，水分約 68～70% になるまで天日乾燥し， Fig. 1 に示すように魚体のシリビレの棘を中心として直径約 7cm の円形にうちぬき，その部分のみを 6～8 尾分ずつ重ねて円壔状となし，ポリエチレンの袋に封入した。酸化防止剤添加試料は，はじめの塩蔵の際計算量の BHA をアルコール溶液として添加し調製した。

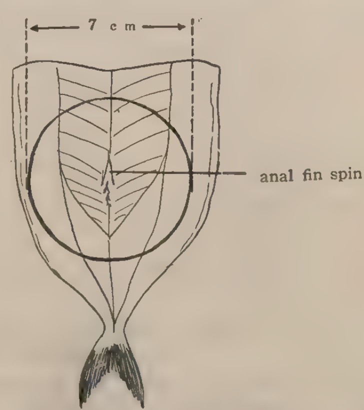


Fig. 1. Showing the part of sampling from salted-and-dried saurel to be irradiated.

* 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish., 6-Shibakaigandori, Minato-ku, Tokyo).

γ 線照射は 1000 キュリーの ^{60}Co を線源として室温 (12°C 前後) で 15 時間行ない，照射量は線源と試料との距離で調節した。

照射終了後，臭の変化を五官により評価した後，試料をチョッパーで細切し，その油脂の変化を過酸化物価と TBA 価により検討した。なお過酸化物価は TARR[5] の方法により，TBA 価は SCHWARTZ[6] がカキについて行なつた方法にしたがつた。

結果および考察

1. 空気並びに酸化防止剤の影響

γ 線照射に際して，空気および酸化防止剤の影響を検討した結果 (Tables 1, 2, 3, 4) すでに ASTRACK 等[7] がサバ油について報告している結果と同様，空気が存在する場合に，試料の油脂の過酸化物価は，照射により著るしく増大するが，この変化は，酸化防止剤を使用することによつてかなり抑制されることを確認した。しかしながら空気が存在しない時には，この過酸化物の形成は，酸化防止剤の存否に関係なく著るしく制限された。TBA 価は，一般に照射により増大し，揮発性成分の増加を示した。これらのものの照射臭は，空気並びに酸化防止剤の存在にほとんど無関係に，照射量の増加にしたがつて増大するように思われたが，TBA 価の結果は必ずしもこれと一致しなかつた。なお，酸化防止剤を添加したものでは，これを添加しない対照品の照射臭以外に，独特の臭気が認められた。

Table 1. Effect of γ-radiation in the presence of air on some properties of oil of salted-and-dried saurel.

Properties of the oil	Before irradiation	After irradiation (Dose: ×10⁶ r.)			
		(0)	(0.52)	(1.02)	(2.26)
Peroxide value*	58.3	69.3	111.2	181.2	164.8
TBA value**	4.50	4.76	4.75	5.15	5.15

* meq./kg of oil.
** optical density/g. of fish flesh.

Table 2. Effect of γ-radiation in the presence of air on some properties of oil of BHA-treated*** salted-and-dried saurel.

Properties of the oil	Before irradiation	After irradiation (Dose: ×10⁶ r.)			
		(0)	(0.52)	(1.02)	(2.26)
Peroxide value*	27.0	35.6	41.6	58.0	79.4
TBA value**	0.86	1.94	2.03	2.70	2.48

* meq./kg. of oil.
** optical density/g. of fish flesh.
*** The sample fish were splitted and immersed in 0.01% BHA-containing NaCl soln. for 16 hrs. prior to drying.

Table 3. Effect of γ-radiation *in vacuo* on some properties of oil of salted-and-dried saurel.

Properties of the oil	Before irradiation	After irradiation (Dose: ×10⁶ r.)			
		(0)	(0.52)	(1.02)	(2.26)
Peroxide value*	72.5	76.7	80.7	81.0	63.5
TBA value**	1.67	1.73	1.84	1.96	2.21

* meq./kg. of oil.
** optical density/g. of fish flesh.

Table 4. Effect of γ–radiation *in vacuo* on some properties of oil of BHA–treated*** salted-and-dried saurel.

Properties of the oil	Before irradiation	After irradiation (Dose: $\times 10^6$ r.) (0)	(0.52)	(1.02)	(2.26)
Peroxide value*	23.3	24.6	24.8	23.3	19.1
TBA value**	0.98	1.08	1.01	1.01	1.26

* meq./kg. of oil.
** optical density/g. of fish flesh.
*** The sample fish were splitted and immersed in 0.01% BHA–containing NaCl soln. for 16 hrs. prior to drying.

つぎに脱気して γ 線照射をした場合に試料に添加した BHA 量の影響を検討した (Table 5)。照射終了時においては試料の過酸化物価，TBA 価は BHA を添加しない対照に比べ，いずれも低い値を示したが，酸化防止剤の濃度による差異はほとんど認められなかつた。これら BHA の添加による油脂性状の変化は γ 線照射以前の変化におうところが多いように思われる。

Table 5. Effect of the BHA applied to salted-and-dried saurel throughout a γ–radiation of 1.02×10^6 r. (*in vacuo* at about 12°C.).

Properties of the oil	Concentration of BHA in curing solution 0%***	0%	0.005%	0.01%	0.02%	0.05%
Peroxide value*	31.0	35.3	24.7	12.9	11.6	10.7
TBA value**	2.42	3.02	1.40	1.00	0.92	1.08

* meq./kg. of oil.
** optical density/g. of fish flesh.
*** Not irradiated.

2. 電気燻製液の影響

一般に燻製品は，γ 線照射をしても照射臭が少ないといわれるので，電気燻製液[8]（以下電燻液と略す）を添加した塩乾アジを調製して前記同様，脱気して照射実験を行なつた (Table 6)。

Table 6. Effect of the electro-smoke solution[8] applied to salted-and-dried saurel throught a γ–radiation of 1.02×10^6 r. (*in vacuo* at about 12°C.).

Concentration of electro-smoke solution	Not irradiated		Irradiated	
	Peroxide value*	TBA value**	Peroxide value*	TBA value**
0%	38.3	3.60	56.8	3.67
1%	25.1	2.18	29.0	2.62
2%	22.9	1.85	26.4	2.50
5%	12.5	1.56	14.2	1.70

* meq./kg. of oil.
** optical density/g. of fish flesh.

電燻液が乾製品の油焼をよく防止することは，すでに報告されている[9)10)]が，本実験の結果は，BHA の場合ときわめて良く似ており，電燻液の使用濃度の増加にしたがつて γ 線照射以前の油脂の変化がよく防止され，したがつて照射後においてもかなり低い過酸化物価，TBA 価を保持していた。

これらのものの臭は，製品の燻煙臭が強くなるために，電燻液の使用濃度の増加とともに識別しにくくなる傾向はあつたが，そのいずれにも照射臭が認められた。したがつて燻煙中の成分が，照射臭の防止に特に有効であるとは思われない。

3. γ 線照射後の試料の油脂の変化

塩乾アジを前記のごとく，包装，脱気して 10^6 r. 照射後，室温 (12°C. 前後) で貯蔵したところ，γ 線照射をしなかつた試料は照射 1 週間後には腐敗したが，照射殺菌した試料ではいずれも，2 週間後においてもな

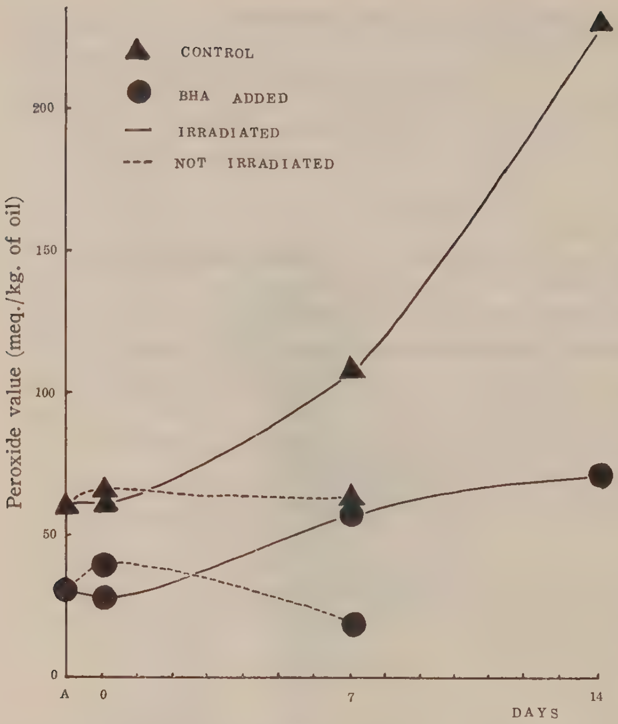


Fig. 2. Development of rancidity in oil of salted-and-dried saurel irradiated *in vacuo.* at about 12°C. Dose: 1.02 $\times 10^6$ r. Point A, the time of finishing the drying. Not-irradiated samples were corrupted similarly in 7 days storage.

お腐敗の徴候は認められなかつた。これらのものの油脂の過酸化物価の変化を Fig. 2 に示したが，酸化防止剤を添加しなかつた試料では照射後過酸化物価が増大し，1週間後には 100 meq./kg. oil を越え，その後さらに増加を示したが，照射前に酸化防止剤を添加しておいたものは，2週間後においてもなお 100 meq./kg. oil に達せず，良くその効力を示した。

これら照射した試料の，貯蔵中の過酸化物価の増加は，魚油についての報告[7] を参照して考えると，包装材料であるポリエチレンの通気性におうところが多いのではないかと思われる。

要　　約

以上の結果から，塩乾品は水分が比較的多い場合であつても照射殺菌によりかなり長期の貯蔵に耐え，かつその際脱気すれば，照射による油脂の酸化を相当に抑制することが判つた。なおその際に酸化防止剤を適用すると，照射以前の過酸化物の蓄積を防止することは勿論であるが，照射後の油脂の酸化を抑制するから有効である。しかしながら脱気並びに酸化防止剤の添加によつて照射臭を防止したり，あるいは著るしく軽減することはできない。電燻液を使用すると照射臭をかなりかくすことはできるが充分ではない。

本研究に際して御助言を頂いた教授農学博士岡田郁之助先生，教授猿谷九万先生，助手菊池武昭氏，報文の御校閲を頂いた助教授農学博士野中順三九先生，実験に協力された学生鈴木幹夫君，電燻液に関する文献を供与された東北大学教授農学博士土屋靖彦先生，BHA を供与された日本揮発油株式会社，電燻液を供与された宮忠産業株式会社に厚く御礼申上げます。

文　　献

1) O. F. Batzer and D. M. Doty: *J. Agr. Food Chem.*, **3**, 64～67 (1955).
2) O. F. Batzer, M. Sribney and D. M. Doty: *J. Agr. Food Chem.*, **5**, 700～703 (1957).
3) L. A. Witting and B. S. Schweigert: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **35**, 413～416 (1958).
4) L. A. Witting and O. F. Batzer: *Food Res.*, **22**, 237 (1957).
5) H. L. A. Tarr: *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **5**, 137～154 (1947).
6) M. G. Schwartz and B. M. Watts: *Food Res.*, **22**, 76～82 (1957).
7) A. Astrack, O. Sorbye, A. Brasch, and W. Huber: *Food Res.*, **17**, 571～583 (1952).
8) Y. Toriyama, S. Nagao, T. Suto and T. Takahashi: *Food Eng.*, **27**, 105, 210 (1955).
9) 土屋靖彦・中野智夫・上崎武男・荒　若司: 水産学集成，855～862 (1957).
10) 土屋靖彦・中野智夫: 日本水産学会東北支部会報，**9**, No. 1, 2 (1958).

漁獲後の処理法が肉質変化におよぼす影響の研究—IV.

サンマの鮮度保持のための CTC 氷の使用

土屋靖彦・野村　正・村瀬昌彦

(1959 年 6 月 26 日受理)

STUDIES ON THE INFLUENCE OF TREATMENTS IMMEDIATELY AFTER CATCHING UPON THE QUALITY OF FISH FLESH—IV. USE OF CHLORTETRACYCLINE ICE FOR THE PRESERVATION OF SAURY, *COLOLABIS SAIRA* BREVOORT.

Yasuhiko TSUCHIYA, Tadashi NOMURA and Masahiko MURASE*

Aboard ship immediately after catching, the saury was treated with sufficient ice containing 5 p.p.m. of CTC in such way to rinse out the surface of fish body with its melted water, transferred to the laboratory and kept with further addition of it for 17 days. Chemical and organoleptic examination for the freshness of fish was made during the period of storage and the amount of CTC penetrated in the flesh was also determined by the Tomiyama's microbiological assaying method using cylinder plate. The results can be summarized as follows:

(1) The quality of saury was preserved passably well in CTC-ice for 17 days, whereas in plain ice for 8 days.

(2) At the beginning stage of CTC-icing, the flesh contained about 0.02γ of CTC per gram of tissue and thereafter its content attained to 0.16～0.34γ per gram of tissue.

(3) Generally speaking, the big saury contained a larger amount of CTC than the small one and its content was lower in the dorsal and ventral part than in the caudal one.

Chlortetracycline (CTC) を用いてサンマの鮮度を保持しようとした試みは，著者の一人土屋が佐藤とともにすでに 1956 年行つたが[1)]，当時は価格その他保健上の見地から魚の鮮度保持剤としての抗生物質使用の見透しが暗くあつた。しかしその後多数の研究が世界各地で行なわれ，情勢も変つてすでにカナダ，アメリカなどではそれが実用の段階になつている。そこでわれわれも表題の研究の一環として，改めて多数のサンマを使つて半実用的規模において，この問題をとり上げるとともに，前回[2)]行なわなかつた CTC の魚体への滲透量をも測定したので，以下報告する。なお本研究を行うに当つて，CTC ならびにそれの定量資材の供与を受けたレダリー K.K. およびサンマ船に乗ることを快諾され，かつ多数のサンマ試料を提供された静岡県富蔵弁天丸船長山本忠助氏に対し厚くお礼申上げる。

実 験 方 法

試料: 1958 年 11 月 4 日夜 10 時から翌未明にかけて金華山沖約 100 km, E 142°25′, N 37°59′ の地点（水温 14°C, 気温 13.5°C）で，漁獲したサンマ 150 尾を直ちに 5 p.p.m. CTC 氷に，一方 100 尾を並氷にそれぞれ倍量の氷を使用して 4 斗樽で氷蔵し，研究室に持ち帰つた後（この間約 15 時間），それを魚籠に移して，CTC 氷あるいは並氷で常時魚体を覆うようにさらに充分施氷し保蔵した。魚体は約 0°C，室温は 10～15°C，保蔵日数は 17 日まで行つた。その間随時サンプリングして鮮度を判定し，同時に各部肉について CTC の滲透量を定量した。

* 東北大学水産利用学研究室 (Lab. Marine Food Tech., Fac. Agr., Tohoku Univ.).

鮮度制定: Trimethylamine-N, 揮発性塩基窒素, pH および五感判定を行つた。

CTC 定量: 富山らの簡易シリンダープレート法にしたがつた[2)]。但し氏等と異り定量限界はやや高く, 0.0025 γ/g. tissue は定量出来なかつた。

実験結果ならびに考察

得られた結果は Table 1, 2, 3 および Fig. 1, 2 のごとくである。特に Fig. 1 から見られるように, 通例の鮮度判定では当然増加して行く筈の揮発性塩基窒素の値が CTC 氷, 並氷保蔵ともに 8 日頃まで減少する一方である。しかも五感判定では並氷はその頃腐敗初期の段階にあつた。このことは TMA-N でも似た傾向があり, 廃棄寸前のもので漸く 0.3 mg·% である (Fig. 2)。pH もまたほとんど見るべき変化がない (Fig. 2)。これは前報ですでに報じたように氷の被覆が充分の時はいわゆる一般の好気的腐敗の型式をと

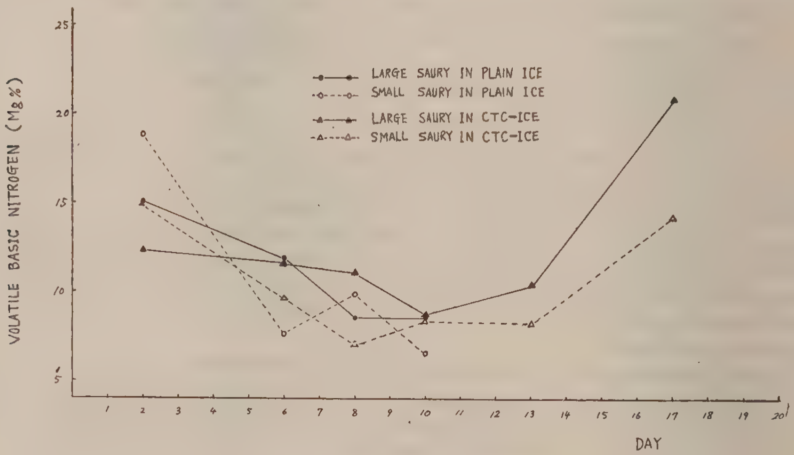


Fig. 1. Content of volatile basic nitrogen of iced saury.

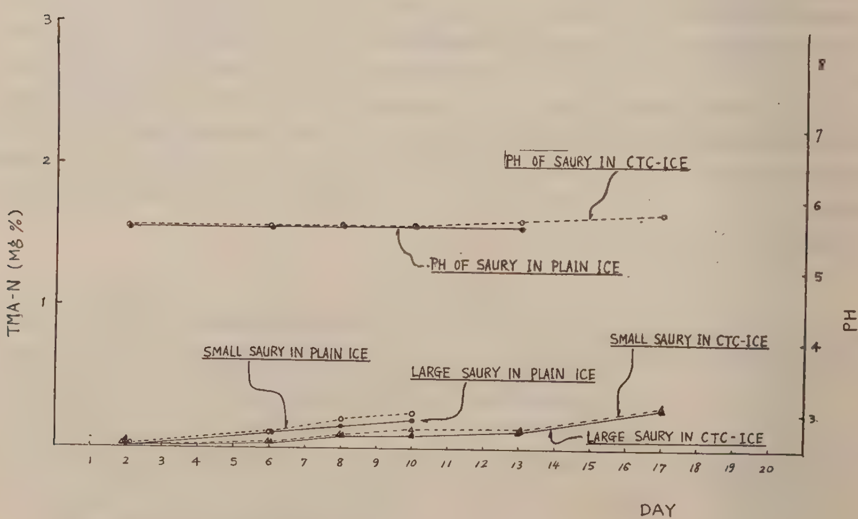


Fig. 2. Trimethylamine nitrogen content and PH-value of iced saury.

Table 1. Chemical and organoleptic test on the iced saury.

	Day	2	6	8	9	10	13	17
CTC-icing	PH	5.6	5.6	5.6	5.6	5.6	5.7	5.8
	Volatile basic N in mg·%	13.7	10.7	9.1		8.5	8.8	17.6
	Trimethylamine N in mg·%	0	0.1	0.1		0.1	0.1	0.3
	Organoleptic test	excellent		good				odour fresh, surface slightly yellow
Plain icing	PH	5.6	5.6	5.6	5.6	5.6	5.6	5.6
	Volatile basic N in mg·%	16.9	9.8	9.1				
	Trimethylamine N in mg·%	0	0.1	0.2				
	Organoleptic test	excellent		odour slightly fishy	odour stale, not marketable			

らないことのためか，または魚体接触部で氷の融解する多量の流下水によつて起る塩基類の流出が原因したものと思われる[4)]（これについては目下さらに検討中）。いずれにしてもこのことから鮮度の判定は結局五感判定のみによらざるを得なかつた。その結果は Table 1 のように，並氷では8日で食用に不適と判ぜられたが，CTC 氷使用のものはいくらか油焼けして行く傾向は見られるが，およそ倍の日数 17 日頃まで食用可能の状態で保存され，その有効性がここに再び確認された。

Table 2. Content of CTC in the saury flesh preserved in CTC-ice (γ/g. tissue)

	Day	2	6	10	13	17
Small saury (25.2～27.0 cm)	Dorsal	0.03	0.21	0.16	0.17	0.23
	Ventral	0.03	0.34	0.23	0.34	0.32
	Caudal	0.02	0.32	0.20	0.26	0.27
Large saury (28.7～29.1 cm)	Dorsal	0.03	0.21	0.15	0.16	0.18
	Ventral	0.02	0.23	0.21	0.26	0.26
	Caudal	0.02	0.27	0.27	0.17	0.24

Table 3. CTC-content in the saury flesh preserved in CTC-ice for 8 days.

Part	Dorsal	Ventral	Caudal
CTC-content in γ/g. tissue	0.36	0.29	0.40

つぎに CTC 氷の処理によつてサンマの組織へ滲透する CTC の量を測つた結果は Table 2 のごとくである。すなわち氷蔵初期は大型サンマ，小型サンマいずれも 0.02～0.03γ/g. tissue で，その間魚体の部位差はほとんど認められない。その後約 17 日までは 0.16～0.34γ/g. tissue で数倍乃至 10 倍の増加である。恐らく常時充分な CTC 氷によつて保蔵されていたため，このように増えたものであろう。もつとも油焼けに伴うある種の抗菌性物質ができて，定量値が増す可能性もないわけではないが，これについては後日の研究によつて確めたい。なお一般に大型魚の方が小型魚より滲透量の低い傾向が見られるが，また脊肉が尾または腹肉より低いことが見られるが，これは恐らくつぎの理由によるものと思う。すなわち CTC の滲透が表皮からある一定の深さまで一様に滲透すると考えると，各部位の肉の厚みすなわち肉量に対する CTC 滲透の割合が大型魚とか脊肉部位では小型魚または尾肉，腹肉に比較して小さく，CTC が事実上稀釈されるような結果になると考える。しかし一方腹肉については脂肪が多いから CTC の吸収が阻害されるという場合もあるのではなかろうか。たとえばつぎの Table 3 によると尾肉は前同様 CTC の滲透が多く 0.4γ/g. tissue であるが，脊肉，腹肉の順で腹肉への滲透は最小である。このように脂肪の多寡も

関係しそうに考えられるが，これについては目下検討中である。以上いずれにしても連続多量の CTC 氷で氷蔵しても CTC のサンマ肉への滲透は 0.5 p.p.m. 以下である。それも表皮部に多く内部への滲透は少い。さらにここに得られた数値はアメリカでの許容量 5 p.p.m. に較べると遙かに小さいものであつた。

摘　　要

（1） サンマ漁獲直後から 17 日間，常時魚体の表面が氷によつて濡らされるような CTC 氷（5 p.p.m.）氷蔵を行つて，その間の鮮度状態および CTC 滲透量を観察，定量した。

（2） 並氷は 8 日で，CTC 氷使用はその倍 17 日まで食用可能の状態を保持した。

（3） 滲透量は初め 0.02～0.03 γ/g. tissue，後漸増し 0.16～0.34 γ/g. tissue となる。

（4） その際大型魚の方が CTC の滲透量が小さい。また肉の厚い部（脊肉）また脂肪の多い部（腹肉）は滲透量が少い傾向がある。

文　　献

1) 土屋靖彦・佐藤善夫： 冷凍，**31**，344 号，12 (1956).

2) 土屋靖彦，他： 同上，**25**，5，381 (1959).

3) 富山哲夫・小林邦男・米　康夫： 本誌，**24**，11，937 (1959).

4) 土屋靖彦，他： 同上，**25**，5，387 (1959).

水産動物筋肉中の有機燐酸化合物に関する研究—VII.
血合筋におけるアデニンヌクレオチドの変化

斎藤恒行・新井健一・矢島敏克

(1959 年 6 月 29 日受理)

STUDIES ON THE ORGANIC PHOSPHATES IN MUSCLE OF AQUATIC ANIMALS—VII.
CHANGES IN PURINE NUCLEOTIDES OF RED LATERAL MUSCLE OF FISH

Tsuneyuki Saito, Ken-ichi Arai and Toshikatsu Yajima*

The purine compounds from the muscle of some fishes (mackerel, trout and rainbow trout) have been studied by the hydrochloric acid gradient-elution system on Amberlite IRA–400. By the same technique changes have also been followed in the nucleotide composition of rainbow trout muscle which was stored at an ambient temperature of about 0°C. From these studies it has been observed that in red lateral muscle, as compared with dorsal, two specificities are notable. The first is the difference in the total amounts of purine compounds especially those of inosinic acid (IMP). In red lateral muscle less amounts of the purine compounds are found than in dorsal muscle. The second is dependent upon the degree of splitting of IMP. In red lateral muscle there is a rapid splitting of IMP as time goes by while in dorsal the same phenomenon as in carp muscle (accumulation of IMP) is observed; as a result, the amounts of inosine and hypoxanthine in the former increase rapidly. This may be due to the more strong activity of 5′–nucleotidase in the former.

血合筋の生理的な特異性に関してはすでに古くから着目されてきたところであるが，これに含有される成分殊にビタミン，酵素，たん白質，脂質等に関しては数多くの報告がある。しかしながらアデノシン三燐酸(ATP)を中心とする酸溶性核酸成分に関する研究は極めて少なく，わづかに報告されている結果についても，血合筋中の含有量と他の筋肉あるいは臓器等における含有量との比較が行われている程度である[1)]。著者等はニジマス，サバ，マス等の血合筋を材料として，これらの筋肉中における酸溶性核酸成分の含有量あるいは自己消化過程における変化を測定し，これと平行して同一個体の背部より得た筋肉についても同様の実験を行ない，両者を比較検討した結果，両者の間にその変化過程においてかなり顕著な相違点を発見することができたのでここに報告する。

実　　験

試料:　ニジマスは本学部七飯養魚場において捕獲した体長約 30 cm のものを使用した。マスについては忠別川において捕獲したものを直ちに断首し，採肉して低温に保持して実験室に持ち帰り分析に供した。またサバは鮮度良好な市販品と，市販冷凍品とを用いた。

分析方法:　ニジマスについては捕獲後直ちに断首し，皮をはいでさんまいにおろし，血合筋の部分と，脊筋の部分とを選んで採肉する。サバ，マスについてもこれに準じて行なう。試料は 2g をとり，これを 10 倍量の 4% の過塩素酸溶液を用いて磨砕抽出を行ない，これを沪過し，その沪液について既述の方法[2),3)]

* 北海道大学水産学部 (Fac. Fish. Hokkaido Univ. Hakodate, Japan.).

にしたがつてイオン交換樹脂アンバーライト IRA-400 を用いて分析を行なつた。なおイノシン，ヒポキサンチン相互の分離定量は既述のペーパークロマトグラフ法[4]にしたがつて行つた。さらに自己消化過程における変化は，ニジマス筋肉をシャーレ中に入れ，貯蔵温度を 0～1°C として一定時間毎に採取し，前記同様な方法によつて分析を行い，その過程を追跡した。

結果ならびに考察

アデニンヌクレオチド成分の含量比較

冷凍サバ，生鮮サバ，生鮮マスならびに直殺ニジマスの血合筋ならびに背筋におけるアデニンヌクレオチドの含有量を Table 1 に示す。

Table 1. The amounts of the purine compounds in some fish muscle.

Species		Hypoxanthine Inosine*	AMP	IMP	ADP	ATP	Total
Mackerel (refrigerated)	D	2.49	0.24	6.17	0.61	0.16	9.66
	R	5.28	0.87	0.55	0.37	0.15	7.18
Mackerel (refrigerated)	D	2.78	0.18	5.40	0.40	0.12	8.37
	R	5.56	0.98	0.39	0.24	0.09	7.20
Mackerel	D	1.31	0.21	8.65	0.40	0.16	10.73
	R	3.68	0.25	2.13	0.29	0.28	6.47
Mackerel	D	2.02	0.06	7.46	0.39	0.06	9.99
	R	5.61	0.17	1.42	0.48	0.12	7.80
Trout	D	1.41	0.12	5.37	0.54	0.09	7.53
	R	4.08	0.09	0.00	0.30	0.21	4.68
Rainbow trout (living)	D	0.00	0.42	3.36	1.04	3.53	8.35
	R	0.35	0.12	1.07	0.93	3.39	5.86

Values are expressed as μ moles/g. muscle wet weight.
D····dorsal muscle.　R····red laterel muscle.　*····values are expressed as inosine.

上記の結果によれば，ニジマスを除く他の3種の試料に関しては ATP，ADP 等の不安定な化合物はほとんど失なわれ，その大部分はモノヌクレオチド以下の低分子化合物となつていることがわかる。この結果は冷凍品はもちろんのこと，生鮮サバ，マス等においても，その筋肉中には高エネルギー燐酸化合物の存在は期待できないものと判断される。さらにまた極めて新鮮なニジマスにおいてもこれらの化合物の含量がかなり低いことが認められる。ニジマスに関する実験は昭和 34 年 1～2 月の厳寒期に行なつたものであり，しかも試料の取扱は可能な範囲で速やかにかつ低温で行なつたものであるので，取扱時に ATP あるいは ADP の分解が異常に促進されたとは考えられない。したがつて非活動期においてはこれら魚類の筋肉中には本質的にこのような分布状態を示すものではないかと考えられる。この現象は同じ時期にその他のニジマスの試料から得られた結果においても認めることができた。

つぎに同一個体における血合筋と脊筋との含有量を比較すれば，いずれの場合においても総量は脊筋の方がかなり多く，殊にイノシン酸 (IMP) の含有量には顕著な差が認められる。たとえば冷凍サバ，生鮮サバ，生鮮マス，直殺ニジマス等の脊筋と血合筋における IMP/Total を求めてみると，0.64，0.75～0.80，0.71，0.40，と 0.05～0.08，0.18～0.33，0，0.18 となつてその含量差は顕著にあらわされる。しかもこれら IMP の減少の結果としては，イノシン，ヒポキサンチンの量が多くなつている。このことは血合筋においては脊筋におけるよりも 5′-nucleotidase 作用がきわめて活発であるためではないかと考えられる。この間の事情はつぎの Table 2 でも明らかである。すなわちきわめて新鮮なニジマス筋肉の自己消化過程における変化を追跡した結果によつても観察することができる。

右表の結果によれば，血合筋においては時間の経過とともに ATP の減少度はきわめて早く，刺殺後3時間を経過してすでに1/3程度に減少するが，脊筋においては約 60% が残つている。またニジマスにおけるこれらの変化を既述のコイの場合[5]と比較すれば，一般に前者の方が非常に速度が早い。すなわちコイ筋肉においては死直後に存在した ATP が約 1/2 量に達するには，0°C では15〜20時間を要し，IMP の蓄積の傾向も 3〜4 日間は続くものである。ニジマスから得られた結果は JONES[6] 等が codling について得た値とよく似ている。これらの傾向が魚種による相違かどうかに関してはさらに多くの研究を必要とすることであろう。さらにまた興味ある点は血合筋と脊筋における IMP 生成の経過である。すなわち前者においては死後わずかの間 IMP の増加の傾向は認められるが，直ちに減少の経過をとり，これに対応してイノシン，ヒポキサンチンの量が著しく増大する。一方脊筋においては死後6時間附近まで増加し，さらに或期間はその量は貯えられて 72 時間を経過してもわずかに減少の傾向を示すに過ぎない。この傾向は明らかに Table 1 においても容易に考えられることであるが，その原因となるものは両者に含有されている 5′-nucleotidase の活性の相違によるものと思われる。以上述べた事実によれば，血合筋におけるプリンヌクレオチドの変化は脊筋に比較して明らかに差異のあるものであり，従来述べられている肝臓機能との相関性の一部を察知し得るものではないかとも考えられるが，この点は本化合物以外の微量ヌクレオチドについての詳細な研究によつてさらに興味ある結果が得られるものと期待している。

Table 2. The changes of the purine compounds of rainbow trout muscle.

	Compound found ＼ Time (hr) elapsed	0	3	6	24	72
Dorsal muscle	Hyoxanthine	0.00* (Hyoxanthine + Inosine)	0.29 (Hyoxanthine + Inosine)	0.14	0.23	0.58
	Inosine			0.63	1.02	1.58
	AMP	0.42	0.17	0.14	0.17	0.20
	IMP	3.36	4.23	6.30	6.09	5.42
	ADP	1.04	1.11	0.30	0.35	0.35
	ATP	3.53	2.10	0.48	0.17	0.08
	Total	8.35	7.90	7.99	8.03	8.21
Red lateral muscle	Hypoxanthine	0.35* (Hypoxanthine + Inosine)	0.17	0.52	0.85	1.25
	Inosine		0.53	1.90	3.11	3.42
	AMP	0.12	0.20	0.17	0.12	0.15
	IMP	1.07	3.21	1.86	1.34	0.62
	ADP	0.93	0.44	0.41	0.30	0.30
	ATP	3.39	1.30	0.99	0.53	0.51
	Total	5.86	5.85	5.85	6.25	6·26

Values are expressed as μ moles/g. muscle wet weight.
*....values are expressed as inosine.

総　　括

1. 血合筋は普通筋（脊筋）と比較してプリン化合物の含有量が低く，ATP の分解が早い。

2. イノシン酸の含有量は血合筋の場合はきわめて速かに変化するが，普通筋の場合はかなりの期間蓄積量は保持される。この事実は筋肉中の 5′-nucleotidase の活性と密接な関係があるものと考えられる。

本研究の試料の調製に当つては本学増殖学科久保達郎教授の絶大な御尽力をえた。なお研究費の一部は農林省農林漁業応用試験研究補助金によつて支弁した。ここに併記して感謝する。

文　　献

1) 堀田一雄・梅村清彦： 生化学，**26**，423 (1954).
2) 斎藤恒行・新井健一： 北海道大学水産学部彙報，**6**，228 (1955).
3) T. SAITO and K. ARAI: Arch. Biochem. Biophys. **73**, 315 (1958).
4) 斎藤恒行・新井健一： 本誌，**23**，265 (1957).
5) 斎藤恒行・新井健一： 本誌，**22**，569 (1957).
6) N. R. JONES and J. MURRAY: Biochem. J., 66, 5P (1957).

水棲生物におけるP^{32}の吸収および代謝に関する研究—I.
マミズイトミミズによるP^{32}の吸収および代謝*

小 林 邦 男・富 山 哲 夫

(1959 年 6 月 30 日受理)

STUDIES ON ABSORPTION AND METABOLISM OF P^{32} IN AQUATIC ORGANISMS—I.
TURNOVER OF P^{32} IN *RHIZODRILUS LIMASUS* (HATAI)

Kunio KOBAYASHI and Tetuo TOMIYAMA**

A number of studies were reported on the uptake of dissolved P^{32} by aquatic organisms[1]. The present authors demonstrated that the fresh water fish was able to uptake $P^{32}O_4$ ion directly from aquarium water and that the gills were the major pathway for its absorption[2]. No works have been made, however, of the turnover of the directly uptaken phosphorus among various phosphorus compounds except for that in the developing sea urchin embryo[4,5]. The present paper deals with the turnover of absorbed P^{32} in a sludge worm, *Rhizodrilus limasus* (HATAI).

The radioactivity of the worm increased rapidly and linearly with time of culture when this worm was placed in P^{32}-containing water (Fig. 1). The acid soluble fraction was prepared by blending a sharply frozen tissue with trichloracetic acid. The lipide-, nucleic acid- and phosphoprotein-form phosphorus were fractionated from the insoluble part by the SCHNEIDER method[7]. The distribution patterns of P^{32} in these four fractions were studied when the worm was active in absorbing P^{32}, on one hand, and in excreting it, on the other (Fig. 2~5). It was found that P^{32} which was absorbed by *Rhizodrilus*, entered at first into the acid soluble fraction and that the acid soluble P^{32} was largely incorporated in both nucleic acid and lipide whereas only slightly in protein (Fig. 6).

I. 緒　　言

水棲動物による水中 $P^{32}O_4$ イオンの直接吸収については，LINDBERG のウニの卵における研究をはじめ多くの研究者によつて報告されている[1]。著者等は 1956 年にコイが水中の $P^{32}O_4$ イオンをエラを通して直接吸収し，吸収された P^{32} は血液によつて体の各組織に運ばれ，蓄積されることを明らかにした[2]。しかし水棲動物に吸収された P^{32} の代謝については，ほとんど研究されていない。浅野等[3]はキンギョとイガイについて，水中から吸収された P^{32} の代謝について報告しているが，P^{32} の種々の燐化合物間の遷移の模様を明らかにしていない。また，VILLEE 等[4] および ALBERT 等[5] はウニの卵発生の初期における水中 $P^{32}O_4$ イオンの直接吸収およびその代謝について報告しているが，一般の水棲動物については未だ明らかにされていない。この点を究明するために本研究を行なつた。

著者等は以前水棲動物の水中 Ca イオンの吸収を吟味するに当つて，試料の取扱いが容易であり，豊富に採取できるという利点から，マミズイトミミズ，*Rhizodrilus limasts* (HATAI) を用いて実験を行ない好結果を得た[6]。代謝の模様を時間的に追究する場合に，供試生物の個体差の大きいものは極力避けねばならな

* 本研究の大要は昭和 33 年 4 月東京における日本水産学会年会に発表した。

** 九州大学農学部水産化学教室 (Lab. Fish. Chem. Fac. Agr. Kyushu Univ., Fukuoka).

いので，本研究においても，まずマミズイトミミズについて実験を行なつた。この研究によつて水中から吸収された P^{32} が種々の燐化合物へ移行し，蓄積されていく模様を明らかにすることができたので報告する。

II. 実 験 方 法

P^{32} 水中で培養したマミズイトミミズは適当な時間ごとに 2g (約 140 匹) ずつとり出し， P^{32} を含まない水中でよく洗い，沪紙で水分を吸いとつた後秤量した。つぎにポリエチレンの袋に包み，ドライアイスとエタノールの混合で得た約 −40°C の冷媒に浸漬し，瞬間的に凍結させた後，約 −10°C のエタノール浴中に置いたガラス製乳鉢に入れ，トリクロル醋酸を加えて擂砕し，遠心分離によつて上澄液すなわち酸可溶性燐化合物を得た。不溶区分は SCHNEIDER 法[7] によつて燐脂質，核酸，および燐蛋白に分画した。

各試料の activity は神戸工業製 SA–5 型 G–M 計数装置によつて測定した。燐量は試料を湿式灰化法で酸化分解した後に YOUNGBURG 法[8] によつて発色させ，日立製分光光度計 EPU–2 型を用い，波長 695 mμ における吸光度から求めた。

III. 結果および考察

マミズイトミミズ 15g を P^{32} 水 (activity, 11,000 cpm./ml.; P 濃度，70γ/l; 水温，11〜12.5°C) 3l 中に培養したところ，イトミミズの activity は Fig. 1 に示すように培養時間の経過とともに直線的に増加した。各培養時間におけるイトミミズの燐化合物を SCHNEIDER 法[7] によつて酸可溶性燐，燐脂質，核酸および燐蛋白の 4 区分に分画し，吸収された P^{32} が各燐化合物に移行していく模様を追跡した結果は Fig. 2 に示す通りであつた。酸可溶性燐の activity は最初急激に増加するが，12 時間経過した頃から次第に緩慢になつたのに対して，核酸および燐脂質の activity は培養時間の経過とともに増加し，核酸は 15 時間後，燐脂質は 19 時間後に酸可溶性燐のそれよりも大きな値に達した。燐蛋白の activity は前記の燐化合物に較べて著るしく小さな値を示した。

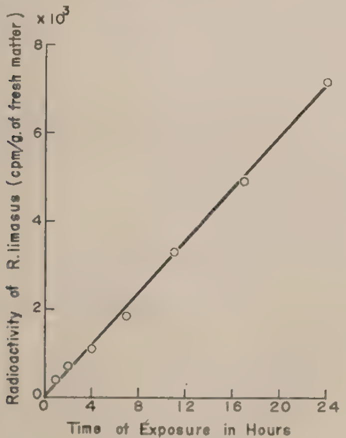


Fig. 1. Absorption of $P^{32}O_4$ ion from aquarium water by *Rhizodrilus limasus.*
Aquarium water contained radioactivity of 11,000 cpm./ml. and phosphorus of 70γ/l. Temperature ranged from 11 to 12.5°C.

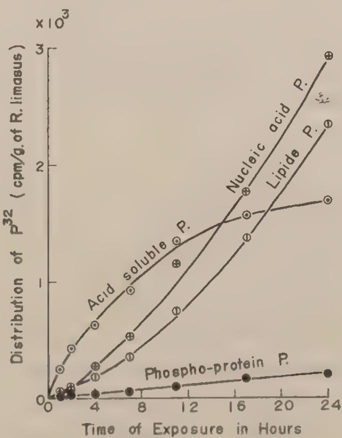


Fig. 2. Change in distribution of absorbed P^{32} in various P-compounds of *Rhizodrilus limasus.*

この各燐化合物の activity 増加の相違は Fig. 3 に示した各分画区への P^{32} の分布率によつて容易に理解できる。酸可溶性燐への activity の分布率は培養を開始してから 1 時間後では total activity の 70%

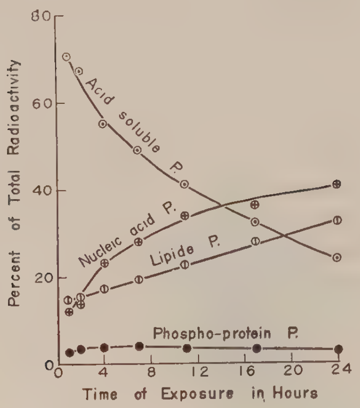


Fig. 3. Rate of incorporation of absorbed P^{32} into various P-compounds of *Rhizodrilus limasus.*

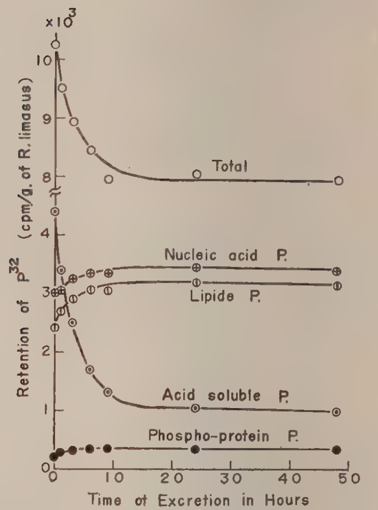


Fig. 4. Variation in retention of P^{32} in various P-fractions of *Rhizodrilus limasus* during excretion in running water.
P^{32}-water: radioactivity, 3×10^4 cpm./m*l*.; P, 70γ/*l*.; temp., 14°C.
Running water: P, 70γ/*l*.; temp., 13～14.5°C.

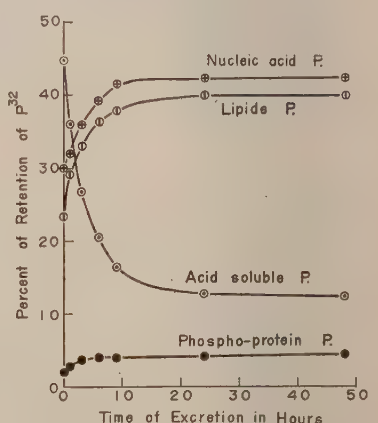


Fig. 5. Rate of retention of P^{32} in various phosphorus compounds of *Rhizodrilus limasus.*

を占めたが，12 時間後には 40% に，24 時間後には 24% に減少した。これに対して核酸および燐脂質への activity の分布率は，1 時間後では total activity の 12% および 15% であつたが，24 時間後にはそれぞれ 41% および 33% と酸可溶性燐よりもかなり大きな値を示した。燐蛋白の activity は 24 時間の培養中終始 3～4% の低い値を示したに過ぎなかつた。以上の結果から吸収された P^{32} はまず酸可溶性燐化合物中に入り，漸次核酸および燐脂質に移行蓄積されると看做してよいが，この模様を更に明らかにするためにつぎのような実験を行なつた。

イトミミズ 15g を activity の高い P^{32} 水 (activity, 3×10^4 cpm./m*l*.; P 濃度， 70γ/*l*.; 水温，14°C) 3*l* 中に 4 時間培養した後，P^{32} を含まない流水 (P 濃度，70γ/*l*.; 水温，13～14.5°C) 中に移して 48 時間培養し，その期間におけるイトミミズに吸収された P^{32} の各燐化合物間の遷移の模様を追跡した。イトミミズの total activity および各燐化合物の activity の変動は Fig. 4 に示す通りであつた。イトミミズの total activity はイトミミズを P^{32} 水中から流水中に移した直後は，生鮮物 1g 当り 10,200 cpm. であつたが，10 時間後には約 8,000 cpm. に減少した。しかし，それ以後 2 日間の培養中 activity の減少はほとんど認められなかつた。各燐化合物の activity は流水中における培養時間の経過とともに著るしく変動した。すなわち，イトミミズの生鮮物 1g 中の酸可溶性燐の activity は 24 時間の間に 4,400 cpm. から 1,000 cpm. へと著るしく減少したが，他方核酸および燐脂質の activity は，外部からの P^{32} の供給が断たれ，その上に total activity が 20% も減少したにも拘わらず，それぞれ 3,000 cpm. から 3,400 cpm. および 2,400 cpm. から 3,000

cpm. に増加し，燐蛋白の activity も僅かながら増加した。

各燐化合物の activity の変動の模様は activity の分布率を求めることによつて一層明瞭である。Fig. 5 にその分布率を示した。酸可溶性燐の activity が最初 total activity の 45% を占めたにも拘わらず，9 時間後には 16% に，24 時間後には 13% に減少したのに対して，核酸および燐脂質では最初 30% および 23% であつたのが 9 時間後には 42% および 38% に，24 時間後には 43% および 39% に達し，以後平衡状態を示した。燐蛋白の activity も最初 2% であつたのが 9 時間後には 4% に，24 時間後には 4.5% に増加した。

Table 1. Amounts of P in various phosphorus compounds of *Rhizodrilus limasus* at 24-hour culture.
Water contained phosphorus of $70\gamma/l$. Temperature ranged from 11 to 12.5°C.

	Amounts of P (γ/g. of *R. limasus*)	Distribution of P (%)
Acid soluble P	695	41
Lipide P	510	30
Nucleic acid P	378	22
Phospho-protein P	130	7
Total	1,713	100

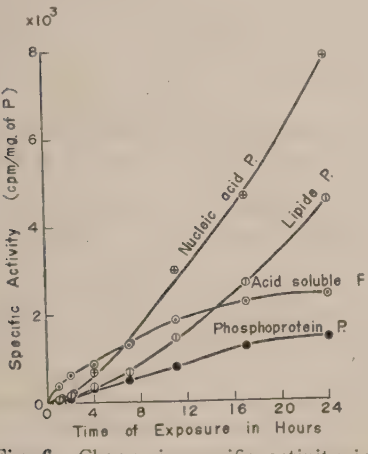


Fig. 6. Change in specific activity in various P-compounds of *Rhizodrilus limasus*.
Aquarium water contained radio-activity of 11,000 cpm./*ml*. and phosphorus of $70\gamma/l$. Temperature ranged from 11 to 12.5°C.

なお，酸可溶性燐化合物の activity の減少量は Fig. 4 の結果から分るように，total activity の減少量と核酸，燐脂質および燐蛋白の activity の増加量との和に等しく，水中からイトミミズに吸収された P^{32} はまず酸可溶性燐化合物中に入り漸次核酸，燐脂質に移行し，蓄積されていくことが明らかになつた。

つぎにイトミミズの P^{32} 吸収の実験 (Fig. 1～3) において 24 時間培養した試料から各燐化合物を分画し，これらを常法によつて湿式灰化した後に YOUNGBURG 法[8] によつて燐量を定量した。その結果は Table 1 に示すようであつた。イトミミズの各燐化合物の燐量は 24 時間の培養中に変化しなかつたものと看做して，各培養時間における各燐化合物の specific activity (cpm./mg. of P) を求めた結果は Fig. 6 のようであつた。Fig. 6 から明らかなように，最初酸可溶性燐の specific activity は各分画区中最も大きな値を示したが，12 時間経過した頃からその増加は次第に緩慢になり，17 時間を過ぎる頃から漸次平衡状態に近づく傾向が認められる。これに対して，核酸の specific activity は培養時間の経過とともに増加し，7 時間後には酸可溶性燐と同じ値を示し，以後急速に増加し，16 時間後には酸可溶性燐の 2 倍，23 時間後には 3 倍に達した。また燐脂質の specific activity も培養時間の経過とともに増加し，15 時間後には酸可溶性燐と同じ値を示し，24 時間後には約 2 倍に達した。燐蛋白の specific activity も培養時間の経過とともに次第に増加したが，常に各分画中の最小値を示した。これらの事実は，核酸および燐脂質に移行した燐が漸次蓄積されるのに対して，酸可溶性燐化合物においては燐の turnover が極めて活發に行なわれていることを示している。

IV. 総　　　括

水棲生物における P^{32} の吸収および代謝について研究するに当り，まず取扱いが容易であり，均一な試料

がとれるマミズイトミミズ，*Rhizodrilus limasus* (HATAI)，を用いて実験を行なつた。

1. P^{32} 水中に培養したイトミミズの activity は培養時間の経過とともに直線的に増加した。

2. 水中からイトミミズに吸収された P^{32} は，最初酸可溶性燐化合物中に入り，漸次核酸および燐脂質に移行，蓄積される。

3. 酸可溶性燐化合物中の燐の turnover は核酸および燐脂質に較べて活潑である。

本研究には文部省科学研究費（綜合研究）の援助を得た。ここに謝意を表す。

文　　献

1) OLOV LINDBERG: *Arkiv. Kemi., Mineral Geol.* **26** B, No. **13**, 4 (1948). R. R. RONKIN: *J. Cellular Comp. Physiol.* **35**, 241～60 (1950). ——: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* **73**, 41～4 (1950). LORIN J. MULLINS: *Acta. Physiol. Scand.* **21**, 303～14 (1950). GERRIT BEVELANDER: *New York J. Dentistry* **21**, 305～8 (1951). ——: *Biol. Bull.* **102**, 9～15 (1952). A. M. PHILLIPS, D. R. BROCKWAY, F. E. LOVELACE and G. C. BALZER: *Cortland hatchery report* **22**, New York Conser. Dept., Albany, N. Y. (1953). SUMNER C. BROOKS and EDWARD L. CHAMBERS: *Biol. Bull.* **106**, 279～96 (1954). EDWARD L. CHAMBERS and WILLIAM E. WHITE: *Biol. Bull.* **106**, 297～307 (1954). 辻井禎・吉井義一・岡田彌一郎・井上義雄・宮村光武：本誌，**20**, 107～11 (1954). I. A. SHEKHANOVA: *Doklady Akad. Nauk S. S. S. R.* **106**, 161～4 (1956). J. FRAGA DE AZEVEDO, F. A. CARVAŌ GOMES, ANTÓNIO M. BAPTISTA, E. MENDES MAGALHÃES, and F. BRAGANCA GIL: *Garcia Orta* **4**, 523～9 (1956). V. S. KIRPICHNIKOV, A. N. SVETOVIDO, and A. S. TORSHIN: *Doklady Akad. Nauk S. S. S. R.* **111**, 221～4 (1956). 吉井義一・渡部哲光・岡田彌一郎：本誌，**22**, 240～3 (1956). EUGENE HARRIS: *Can. J. Zool.* **35**, 769～82 (1957). M. P. BOGOYAVLENSKAYA and I. A. SHEKHANOVA: *Izuchenie Zhivotn. Organizma.* (Moscow: Akad. Nauk S. S. S. R.) *Sbornik* 1958, 207～11. ——: *Referat. Zhur. Khim., Biol. Khim.* 1958, Abstr. No. **24935**.
2) T. TOMIYAMA, K. KOBAYASHI and S. ISHIO: "*Research in the Effects and Influences of the Nuclear Bomb Test Explosions*" (Japan Society for the Promotion of Science) p. 1195～1200 (1956).
3) MOTOKAZU ASANO and MASAO ITO: *Tohoku J. Agr. Research* **7**, 291～302 (1957).
4) C. A. VILLEE, M. LOWENS, M. GORDON, E. LEONARD, and A. RICH: *J. Cellular Comp. Physiol.* **33**, 93～112 (1949).
5) ALBERT L. BOLST and ARTHUR H. WHITELEY: *Biol. Bull.* **112**, 276～87 (1957).
6) T. TOMIYAMA, K. KOBAYASHI and S. ISHIO: "*Research in the Effects and Influences of the Nuclear Bomb Test Explosions*" (Japan Society for the Promotion of Science) p. 1173～1176 (1956).
7) W. C. SCHNEIDER: *J. Biol. Chem.*, **161**, 293 (1945).
8) YOUNGBURG, G. E. and YOUNGBURG, M. V.: *J. Lab. Clin. Med.*, **16**, 158 (1930).

ねり製品の内部腐敗に関する研究—IV.

Bacillus 属菌の繁殖におよぼす培地初期電位の影響

横 関 源 延

(1959 年 7 月 6 日受理)

STUDIES ON THE INTERNAL SPOILAGE OF FISH JELLY PRODUCTS—IV. EFFECT OF THE INITIAL OXIDATION-REDUCTION POTENTIAL OF THE MEDIUM UPON THE GROWTH OF *BACILLUS* SPECIES

Motonobu Yokoseki*

It has been shown in the preceding paper that interior portion of fish jelly products (Kamaboko) or fish sausage is being kept in a condition of rather low oxidation-reduction potential, Eh value likes range between −0.100 and −0.250 volts.

Taking into consideration of this factor, the present report dealt with observation of the growth under different level of oxidation-reduction potential for some varieties of *Bacillus* group including both type strains and the organisms isolated from commercial fish sausage.

In a test with glucose-agar medium, 11 strains from 21 strains of *Bacillus* species failed to grow where the initial Eh value was adjusted to −0.2 volt with thioglycolic acid, however, none of the strain of *Bacillus megaterium* tested could indicate growth. These findings were never shifted to any other pattern, even when yeast extract was added to the medium, but most strains lost ability to grow on the medium lacking glucose, while in the medium containing starch in stead of glucose, the majority of strains showed fairly good growth as in glucose-agar medium. These results suggest that *Bacillus* species normally need certain fermentative sugar for their growth in low potential condition.

The lowest Eh value of the glucose-agar medium which enables growth of these strictly aerobic *Bacilli* was found to be near +0.20 volt for both spores and vegetative forms. On the other hand, in a medium without glucose, these microorganisms required a condition in which the minimum Eh value should be kept above +0.24 volt.

The growth of facultative aerobic strains, capable to grow even at low potential, was also affected by the change in oxidation-reduction potential of media. Under circumstance of high potential such as the Eh above +0.23 volt, facultative aerobes showed much vigorous development, but if the potential of medium would turn to negative region, these strains could grow only in less extent. And also, some strains of this group were no more able to grow at the Eh below −0.25 volt and in addition, the colonies formed in agar medium became to decrease in their number in accordance with reduction of the potential.

前報[1]において，ねり製品内部はハンペン等の多泡性の製品を除き，一般にその酸化還元電位 (O-R. P) が低く，Eh がマイナス側にあることを明らかにした。

細菌の繁殖に対する O-R. P の影響は特に偏性嫌気性菌について研究されており，多数の報告[2)3)4)5)6)]がある。一般に偏性嫌気性菌が旺盛な発育を示すためには培地の初期電位が Eh −0.1～−0.2 ボルト程度の低い条件が必要のようである[5)6)7)]。一方好気性菌の繁殖と酸素濃度あるいは電位との関係についても二，三

* 東海区水産研究所 (Tokai Reg. Fish. Res. Lab. Chuō-ku, Takyo, Japan).
東海区水産研究所業績 B 第 319 号

の報告が見られるが[8)9)10)11)]，その関係は明確にされていないように思われる。

ところでねり製品類の加熱直後に主として残存する菌は，特に加熱温度の低い場合は別として，一般に有芽胞桿菌が主であることはその耐熱性の点から考えて当然である。これら有芽胞桿菌のうち偏性嫌気性菌である *Clostridium* 属の残存する頻度はそう多くはないと考えられる[12)13)14)]。そこで今回は *Bacillus* 属菌の繁殖と O-R. P との関係について，主として固体培地を用いて実験したのでその結果を報告する。

実験方法

(1) 酸化還元電位の測定

O-R. P の測定には電気的な方法と酸化還元指示薬を用いる方法とを併用した。電気的な方法は前報[1)]で報告したとおりである。指示薬法は使用した実験のところで説明することにする。

(2) 使用菌株

実験に使用した菌株はつぎの 22 株である。

1) *Bacillus subtilis* (F)
2) *Bacillus subtilis* Bact 2–8
3) *Bacillus subtilis* PCI 219
4) *Bacillus subtilis* IAM Bact 4–1
5) *Bacillus subtilis* (MY)
6) *Bacillus mesentericus* (F)
7) *Bacillus megaterium* (F)
8) *Bacillus megaterium* 10778
9) *Bacillus megaterium* Bact 1–12
10) *Bacillus megaterium* (MY)
11) *Bacillus cereus* IAM Bact 4–6
12) *Bacillus cereus* (MY)
13) *Bacillus cereus* var. *mycoides* No. 5
14) *Bacillus cereus* var. *mycoides* IFO 3039
15) *Bacillus cereus* var. *mycoides* IAM
16) *Bacillus coagulans* (MY)
17) *Bacillus firmus* (MY)
18) *Bacillus lentus* (MY)
19) *Bacillus circulans* (NN)
20) *Bacillus circulans* (YE)
21) *Bacillus circulans* (HEM 2)
22) *Clostridium sporogenes* NCA, PA 3679

このうち 2)，3)，4)，9)，11)，14)，15) は東大応用微生物研究所，8)，13)，22) は予防衛生研究所，1)，6)，7) は千葉大腐敗研究所よりそれぞれ分与されたものである。また 5)，10)，12)，16)，17)，18) は著者が魚肉ソーセージの加熱直後の製品より分離した株[12)15)]，19)，20)，21) は魚肉ソーセージの軟化変敗の原因菌として，軟化部位より分離した株である[16)]。

(3) 使用培地

つぎに示す組成の培地を基本培地とし，目的によつて，これにブドー糖，澱粉等を添加した。

ペプトン 10 g，肉エキス 10 g，食塩 5 g，寒天 15 g を蒸溜水 1 *l* に溶解し，pH 7.0 に調製する。殺菌は総て 15 ポンド 15 分である。

(4) 酸化還元電位の調節

上記培地にチオグリコール酸あるいはチオグリコール酸ソーダを 0.02～1% 添加して培地の電位を調節した。

(5) 芽胞懸濁液の調製

基礎培地に硫酸マンガン 1 ppm を添加してシャーレに固め，これに寒天斜面 24 時間培養の細菌を全面に塗抹した。30°C 10 日間培養した後殺菌蒸溜水を加えて菌苔を掻き取り，硝子球を入れた殺菌共栓付き三角フラスコに移して十分に振盪，胞子塊を破潰した後，東洋沪紙 No. 5 A で沪過して胞子塊を除く。これを遠心分離器を用いて蒸溜水で 2 回洗浄した後，65°C 30 分加熱して残つた栄養細胞を殺菌し，4°C の冷蔵庫に保存する。使用前再び 65°C 30 分の heat shock を行なつてから用いた。

(6) 栄養菌体懸濁液の調製

基礎培地にブドー糖 1 % を加えた液体培地を L 字型試験管に分注殺菌した後，これに 24 時間斜面培養の菌体を一白金耳接種し，MONOD の振盪培養装置を使用して 30°C 6 時間振盪培養した。培養後遠沈して菌

体を集め，さらに殺菌生理的食塩水で1回洗浄した後，再び殺菌生理的食塩水に懸濁して直ちに使用した。

実 験 結 果

1. 種々の *Bacillus* 属菌の低電位における発育

できるだけ多数の *Bacillus* 属菌を集め，これらが低電位の条件においてどの程度の発育を示すかを実験した。すなわち基本培地にブドー糖1%を添加し，さらにチオグリコール酸を加えて培地の Eh を大体 −0.2 ボルト，pH 7.0 に調節した寒天培地を使用した（チオグリコール酸 0.05%を要する）。この培地を試験管に 20 cc 宛分注して殺菌後，48°C に冷却しておき，これに普通寒天斜面培地に 34°C 48 時間培養した菌を pH 7.0 の M/15 燐酸塩緩衝液に懸濁して適当に稀釈した菌浮游液 1 cc を，培地 1 cc 中 10^3〜10^4 になるように接種してから急冷凝固させる。培地の乾燥を防ぐために試験管にゴム栓をして，25°C と 34°C に培養した。各菌株毎に3本の試験管を用いた。培養中は毎日試料を取り出して観察したが，25°C 培養は 34°C 培養より発育が多少遅れる程度で結果は同様であつた。その結果を Table 1 の第1欄に示した。

すなわち使用した菌株は全部で 21 株であつて，このうち *B. subtilis* 5株中3株，*B. megaterium* 4株全部，*B. cereus* 2株中1株，*B. mesentericus*, *B. firmus*, *B. lentus* 等 11 株は電位の高い培地表面においては，きわめてよく繁殖するにも拘わらず，低電位条件にある培地深部では全く発育が認められな

Table 1. The growth of *Bacillus* strains in the negative side of oxidation-reduction potentia (Eh = −0.2 volts) of agar media after 10 days incubation at 34°C.

Bacillus strains tested	Growth in surfase	Growth in depth: Basal medium — Added glucose	Added glucose and yeast extract	Not added	Added starch
B. subtilis (F)	⧻	+	+	+	+
B. subtilis Bact 2–8	⧻	++	++	±	++
B. subtilis PCI 219	⧻	−	−	−	−
B. subtilis IAM Bact 4–1	⧻	−	−	−	−
B. subtilis (MY)	⧻	−	−	−	−
B. mesentericus (F)	⧻	−	−	−	−
B. megaterium (F)	⧻	−	−	−	−
B. megaterium 10778	⧻	−	−	−	−
B. megaterium Bact 1–12	⧻	−	−	−	−
B. megaterium (MY)	⧻	−	−	−	−
B. cereus IAM Bact 4–6	⧻	++	++	+	+
B. cereus (MY)	⧻	−	−	−	−
B. cereus var. *mycoides* No. 5	⧻	++	++	−	−
B. cereus var. *mycoides* IFO 3039	⧻	++	++	+	++
B. cereus var. *mycoides* IAM	⧻	++	++	+	++
B. coagulans (MY)	⧻	+	±	−	−
B. firmus (MY)	⧻	−	−	−	−
B. lentus (MY)	⧻	−	−	−	−
B. circulans (NN)	⧻	++	++	−	++
B. circulans (YE)	⧻	++	++	−	++
B. circulans (HEM 2)	⧻	++	++	±	++

かつた。残り 10 株は培地表面より，はるかに発育は劣るが，明らかに培地深部においても肉眼で認められる程度の発育を示した。

最近 *Bacillus* 属菌の芽胞の発芽生理について，相当詳細な研究が行なわれている。それによると芽胞の生長（いわゆる germination およびそれに引続いて起る outgrowth の過程を含んでいる）のための栄養要求は栄養細胞の発育のための栄養要求より厳しいとの報告がみられる[17)18)]。そこで低電位の条件で発育を示さなかつた菌株の接種懸濁液が，たまたま芽胞だけであつたかも知れないとの疑問が生じたので，これ等菌の 34°C 6 時間培養の菌を，栄養体の細胞のみであることをたしかめて，同様に接種し，培養してみたが結果は前と全く同様であつた。そこでつぎに，このような菌の低電位における発育には特に栄養要求が厳しくなり，特殊なビタミン要求が生ずることも考えられるので，基礎培地の肉エキスを酵母エキス 0.5%に替え，ブドー糖 1 %を添加した培地に接種してみたが，第 2 欄に示したように，酵母エキスを加えない場合と全く同じ結果が得られた。したがつて，これら低電位において発育しない菌は本質的に低電位には生育できない菌と見なされる。すなわち偏性好気性菌である。

嫌気的条件において，醱酵性の糖類の有無は細菌の発育に対し，エネルギー源として，きわめて重要であることは更めて論ずるまでもない。そこで糖類を含まない基礎培地に試験菌を接種してその発育を観察したところ，Table 1 第 3 欄に示したように，大部分の菌株は糖を加えた場合に比較して，その発育が微弱になり，特に *B. cereus* var. *mycoides* No. 5, *B. circulans* (NN) および (YE) 等の菌株は，培地表面での繁殖はきわめて旺盛であるにも拘わらず，全く生長を示さなくなつた。このような事実は一般に *Bacillus* 属菌が低電位で発育するためには糖類が必要であることを示している。

ねり製品の製造には，たとえ糖を加えない場合にも澱粉を添加することが普通である。そこでブドー糖の代りに澱粉がエネルギー源としての働きがあるかどうかを実験した。その結果を Table 1, 第 4 欄に示した。表によると大部分の菌はブドー糖を加えた場合と同様な繁殖を示したが，*B. cereus* IAM Bact 4-6, *B. cereus* var. *mycoides* No. 5 および *B. coagulans* (MY) は糖を加えなかつた場合と全く同様であつて，これらの菌が低電位においては澱粉を利用し得ないことを示している。

2. 偏性好気性菌の発育できる下限 Eh について

以上の結果によると，*Bacillus* 属には相当豊富な栄養を与えても，ある電位以下の低電位では全く繁殖を示さない菌株のあることが明らかとなつた。このような偏性好気性の *Bacillus* 菌株は，どの程度まで電位が下つたなら発育ができなくなるのかを明らかにしたいと考え，種々検討した結果つぎのような方法によつて確めた。

すなわち基礎培地およびこれにブドー糖 1 %を加えた培地を用い，径の一定な試験管に 10 cc づつ分注して殺菌する。この培地を加熱溶解して 48°C に保つておき，これに Table 2 に示した 7 種類の酸化還元指示薬を 0.1%水溶液として，適当量（僅かに呈色する程度，普通 3〜5 滴）各々 3 本づつの培地に混入し，

Table 2. Range of colored zone from surface of agar media (pH 7.0) containing various redox indicators after 18 hours incubation at 30°C.

Redox indicators	E_0' (Volts) at pH 7.0	Nutrient glucose agar medium		Nutrient agar medium
		Liquid paraffin	No seal	
0-Chlorophenol indophenol	+0.233	0.15 cm	0 cm	0.93 cm
2.6-Dichlorophenol indophenol	+0.217	0.24	0.08	1.09
Thymol indophenol	+0.174	0.77	0.45	1.32
1-Naphthol-2-sulphonate indophenol	+0.123	0.81	0.59	1.65
Methylene blue	+0.011	1.00	0.74	—
Indigo tetrasulphonate	−0.046	1.04	0.76	Whole colored
Neutral red	−0.325	Whole colored	Whole colored	Whole colored

直ちに冷水にて冷却凝固させる。また別にこの上に殺菌流動パラフィンを 2 cm の厚さに重層したものを同時に用意する。

培地に加えた酸化還元指示薬のうち，加糖培地では indigo tetrasulphonate，無糖培地では 1-naphthol-2-sulphonate indophenol より高い標準電位を持つた指示薬は完全に脱色して無色となり，加糖培地では neutral red のみが着色する。このことは加糖培地の電位が Eh で −0.046 ボルトと −0.325 の間にあることを示している。事実電気的に測定したこの培地の電位は Eh −0.048 ボルトであつた。これらを 30°C に放置しておくと，空気中の酸素が培地表面から侵入し，徐々に電位が上昇する。それにつれて各指示薬は表面から深部に向つて着色することになる。流動パラフィンを重層した試験管は培地表面が直接空気に接触していないので，着色する速度がはるかに遅れるわけである。Table 2 は表面からの各酸化還元指示薬の着色層の厚さを測定した結果であつて，3本の試験管の測定値はよく一致した。

この結果からみても流動パラフィンを重層すると，電位の上昇は重層しないものに比べ，はるかに遅れることが明らかである。また糖を加えない培地の電位は糖を加えた培地に比較して電位の上昇が速かである。

指示薬を添加すると同時に，別の試験管に芽胞並びに栄養菌体の浮遊液を 10 cc の培地に 3.0×10^3 になるように加えて，一様に懸濁させて後冷却凝固させる。このような試験管を各菌種について3本づつ作る。また指示薬の場合と同様に流動パラフィンを重層したものも作つた。このようにして用意した芽胞および栄養菌体入試験管を指示薬入試験管と同時に 30°C に培養し，2日間にわたり指示薬の着色層を測定すると同時に，芽胞および栄養菌体を接種した試験管についても表面からの発育層の長さを測定する。すなわち発育の最深部の位置を測定するわけである。一方指示薬の着色層からこの発育最深部の O-R. P（発育下限 Eh）を測定することができる。培地の電位によつて偏性好気性の *Bacillus* の発育が規制されるとすれば，流動パラフィンを重層した試験管の発育下限 Eh と重層しない試験管の発育下限 Eh とが一致するはずである。実験の結果によるとこの両者は実によく一致した。これらの結果を Table 3 に示した。

結果から明らかなように，一般に偏性好気性の *Bacillus* は糖を加えた培地においては大体 Eh +0.2 ボルト以下に電位が下ると発育が阻止され，糖を加えない培地では少なくとも Eh +0.24 ボルトで発育が阻止される。

このように糖を添加した場合は，しない場合より低い電位でも生育できる。これは窒素化合物の酸化に関与する酵素系が糖の酸化に関与する酵素系に比べて高い電位を必要とするからであろう。芽胞の場合と栄養細胞の場合を比較すると，その発育下限 Eh はほとんど変りなく，芽胞に比べて栄養細胞の繁殖が特に低電位でも可能であるという証拠は見当らない。例外として *B. coagulans* (MY) 1 株が芽胞は Eh +0.174 ボルト以上の電位を必要とするのに，栄養細胞は Eh −0.325 ボ

Table 3. The negative limit of oxidation-reduction potential required for the growth of strictly aerobic *Bacillus* strains.

1. Inoculum: spore

Bacillus strains tested	Eh in volts	
	Nutrient glucose agar medium	Nutrient agar medium
B. megaterium (MY)	+0.206	over +0.240
B. lentus (MY)	+0.206	over +0.240
B. subtilis (MY)	+0.190	over +0.240
B. cereus (MY)	+0.190	+0.208
B. firmus (MY)	+0.206	over +0.240
B. coagulans (MY)	+0.174	+0.208

2. Inoculum: vegetative cell

Bacillus strains tested	Eh in volts	
	Nutrient glucose agar medium	Nutrient agar medium
B. megaterium (MY)	+0.200	over +0.240
B. lentus (MY)	+0.200	over +0.240
B. subtilis (MY)	+0.200	over +0.240
B. cereus (MY)	+0.200	over +0.240
B. firmus (MY)	+0.200	over +0.240
B. coagulans (MY)	below −0.325	+0.233
B. subtilis PCI 219	+0.206	over +0.240
B. megaterium 10778	+0.200	over +0.240

ルト以下でも繁殖する。これは *B. coagulans* (MY) の栄養菌体が芽胞とは異なる糖代謝系を獲得したものと思われる。

3. 通性好気性菌の発育に対する電位の影響

低電位においても発育できる，いわゆる通性好気性の *Bacillus* に対する培地初期電位の影響を調べるために，固体培地を用いて実験を行なつた。使用培地は基礎培地にブドー糖1％を添加し，これにチオグリコール酸ソーダを加え，あるいはその他の方法を用いて培地の電位を調節した。すなわち Eh +0.23 以上の高電位条件を作るにはチオグリコール酸ソーダを加えない培地 15 cc を内径 7.2 cm のシャーレに分注し，この電位は指示薬法で測定した。Eh −0.04 ボルトの条件は，やはりチオグリコール酸ソーダを添加しない培地 15 cc を試験管に高層に固め，流動パラフィンを 2 cm の厚さに重層した。それ以下の Eh はチオグリコール酸ソーダをそれぞれ 0.02%，0.1%，0.5%，1％ 添加し，同様高層に固めて流動パラフィンを重層したものである。これらの電位の測定には電気的方法を用いた。培地は殺菌直後，48°C に急冷し，15 cc の培地に 3.0×10^3 になるように各株の芽胞懸濁液を接種して水で急冷凝固させた。後これを 30°C に培養し，生じたコロニーの直径を 10 倍のルーペで，顕微鏡用の接眼ミクロメーターを用いて測定した。Eh +0.23 ボルト以上の条件（平板）は表面直下のコロニーについて，またそれ以下の電位条件（高層）のコロニーは，たとえ流動パラフィンを重層しても先の実験でたしかめたように表面から多少酸素が浸入して電位が上昇するので，培地の中間より深部のコロニーを測定した。いずれも 20 箇前後のコロニーを計り，その平均と標準偏差を求めた。また参考のために偏性嫌気性菌である *Cl. sporogenes* についても同様な実験を行なつた。

いずれの菌株も培地の Eh が低くなるにしたがい，肉眼で認められるまでに生長するのに相当の時間を要する。殊に Eh −0.25 ボルト以下になると，1日目にはほとんどの菌株の生育が認められない。この現象は *Clostridium* といえども同様である。その後徐々に生育するが，4日目以後はほとんど発育せず一定になるようである。Table 4 に3日目の結果を示した。

Table 4. Size of bacterial colony grown in various oxidation-reduction potential of the agar medium after 3 days incubation at 30°C.

Potential of medium (Eh in volts)	Diameter of colony ($\times10^{-1}$ mm)					
	B. subtilis (F)	*B. subtilis* Bact 2–8	*B. cereus* IAM Bact 4–6	*B. cereus* var. *mycoides* No. 5	*B. circulans* NN	*Cl. sporogenes* NCA. PA. 3679
over +0.23	11.6±1.1	6.5±0.5	15.2±1.2	18.1±1.0	3.5±0.4	no growth
−0.04	2.5±0.5	2.0±0.04	4.6±0.6	3.5±0.2	1.8±0.1	4.0±0.4
−0.16	3.4±0.4	2.5±0.3	3.0±0.3	2.5±0.3	2.2±0.2	4.5±0.2
−0.20	2.7±0.4	3.0±0.1	3.7±0.3	3.0±0.1	2.2±0.3	4.0±0.3
−0.25	4.4±0.3	2.0±0.3	2.8±0.2	2.5±0.2	1.8±0.2	2.0±0.1
−0.29	2.3±0.3	2.0±0.2	2.5±0.8	no growth	1.5±0.5	filamentus growth

表から判るように，Eh +0.23 ボルト以上の高い電位における発育は，いずれの菌株も良好であるが，Eh がマイナス側になると発育も微弱になる。しかしマイナス側の電位の間にはあまり大きな差はみられない。ここで問題になるのは *B. circulans* (NN) を除き，他の菌株はいずれも低電位になるにしたがい，コロニーの発生数が減少することである。寒天培地に細菌を培養する際，コロニーの密度が高いと一つ一つのコロニーの大きさは小さくなり，コロニーの密度が低いとコロニーの大きさは大きくなることが知られている[19]。したがつてこの実験では接種菌数は一定であるが，発生コロニーの数がかならずしも一定でないわけであるから，この点を考慮しなければならないと考える。殊に *B. cereus* var. *mycoides* No. 5 は，Eh −0.25 ボルトにおいて Eh +0.23 ボルト以上の場合の約半分のコロニーが発生するに過ぎない。これに反し *B. circulans* (NN) は低電位においてもコロニー数はほとんど変らない。またこの菌株は高電位と低電位のコロニーの大きさにあまり差がなく，寧ろ通性嫌気性菌に近い菌株であると思われる。このような事実

についてはすでに，この菌株の分離された際に多少ふれておつた[16]。また *Cl. sporogenes* の発育が Eh −0.16 ボルトが最高であつて，プラス側の電位では生育しないことは，従来の報告とも一致し，当然であるとしても，Eh −0.25 ボルト以下になると発育が悪くなる事実は意外であつた。このような偏性嫌気性菌にも，嫌気的といわれている条件の中で，生育に適した電位が存在するのではないかと思われる。

考　　察

O-R.P と細菌の繁殖との関係は，嫌気性菌については意見が一致しており，大体 Eh −0.1〜0.2 ボルト以下に培地の O-R.P を下げてやると，空気を吹き込んでもよく生長するという[20]。ところが好気性菌と O-R.P との関係についてはかならずしも意見が一致していないようである。例えば Knaysi[8] によると，普通の培地では酸素の含量と O-R.P とは密接に関連しており，細菌に対する影響はあたかも同一の影響のようであるが，これは分離して研究する必要があると主張し，減圧下すなわち酸素の稀薄な状態では，細菌の生長制限因子は酸素含量であつて O-R.P ではないと述べている。これに対し Wood[9] は適当な酸素の存在する場合，すなわち普通の培養基では O-R.P が細菌の繁殖を決定する因子であると反論している。

いずれにしろわれわれの取扱うねり製品は，特に減圧にされているわけではないから，酸素含量の変化はただちに O-R.P の変化として表われてくることになる。また Knaysi の実験結果を吟味してみると，*B. megaterium* は条件のいかんに関係なく，Eh +0.190 ボルト以下の電位で発育が阻止される結果が得られいる。この点に関しては今回の実験結果とよく一致している。

今度の実験で明らかにしたように，一般に好気性菌といわれている *Bacillus* 属菌も低電位で繁殖し得る菌株があることは事実である。電位との関係を論ずる際は，この性質の異なる菌株を別けて実験することが必要である。またこのような偏性好気的と通性好気的な性質を示す菌は種 (species) によつてきまつているのではないようであつて，同じ菌種中にも低電位で発育できる菌株とできない菌株がある。このことは *Bacillus* 属の分類において，特に偏性好気性菌と通性好気性菌を分類していない現在では，当然のことであると考える[21]。

偏性好気性 *Bacillus* の芽胞を低電位培地に接種しても発育を示さないのであるが，この際芽胞が発芽しているかどうかは不明である。Roth[22] は *B. subtilis*, *B. anthracis*, *B. megaterium* を用い，低電位 (Eh −0.3 ボルト) においても通気した場合と同様に，1時間以内に 99% 以上の発芽率を示すことを報告している。しかし最近，木俣，赤松[13] の報告によると *Bacillus* 中には嫌気的条件で影響を受ける菌株も存在するとのことである。

. Table 1 に示したように，培地に糖を添加しないと低電位条件で *Bacillus* 菌株はほとんど繁殖しない。これは一般に *Bacillus* 属の低電位における発育に醱酵性の糖が必要であつて，窒素化合物をエネルギー源として利用できないのではないかと思われる。この事実はまた魚肉ソーセージの内部に *Bacillus* 属菌が繁殖しても，揮発性塩基窒素の増大がほとんど認められないことと何等かの関係がありそうである。すなわち *Bacillus* 属菌の窒素化合物分解酵素が比較的高い電位を必要とするためと思われる。

摘　　要

1) 多数の *Bacillus* 属菌を集め，これらの発育に対する培地の初期電位の影響を固体培地を用いて実験した。

2) ブドー糖寒天培地を用いた場合，Eh −0.2 ボルトの低電位条件に生育し得ない菌は供試菌 21 株中 11 株であつて，*B. megaterium* は4株全部生育が認められなかつた。この結果は培地に酵母エキスを加えても変りない。

3) 培地から糖を除くと，大部分の菌株は低電位において生育できなくなる。これに澱粉を加えると，大部分の菌は糖を加えた場合と同様の発育を示す。

4) 低電位条件で発育できない菌株の発育下限 Eh はブドー糖寒天培地を用いた場合，芽胞も栄養菌体も

ほぼ同じで Eh +0.20 ボルト附近であつた。これに対し糖を加えない培地では Eh +0.24 ボルト以上であつた。

5) 通性好気性 *Bacillus* の発育に対する電位の影響は，Eh +0.23 ボルト以上の高電位においての繁殖はきわめて良好であるが，培地の電位がマイナス側になると発育はきわめて悪くなる。菌株によつては −0.25 ボルト以下に電位が下ると発育できなくなる。一般に電位が低くなると発生コロニー数が減少する傾向がみられる。

終りに種々御懇切な御指導をいただいた天野慶之博士に厚く感謝の意を表する。

文　　献

1) 横関源延：本誌，**24**，765～769 (1959)，
2) P. Fildes: *Brit. J. Exp. Path.*, **10**, 151～175 (1929).
3) B.C.J.G. Knight and P. Fildes: *Biochem. J.*, **24**, 1496～1502 (1930).
4) B. Vennesland and M.E. Hanke: *J. Bact.*, **39**, 139～169 (1940).
5) G.B. Reed and J.H. Orrr *J. Bact.*, **45**, 309～320 (1943).
6) A.I. Laskin and O.B. Williams: *Bacteriol. Proceedings*, pp. 41 (1955).
7) C.H. Werkman and P.W. Wilson: "Bacterial Physiology", pp. 152～156 (1951).
8) G. Knaysi and S.R. Dutky: *J. Bact.*, **27**, 109～119 (1934).
9) W.B. Wood, Jr., M.L. Wood and I.L. Baldwin: *J. Bact.*, **30**, 593～602 (1935).
10) C.E. Cohn-Bronner: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **45**, 454～456 (1940).
11) G. Charlton: *J. Bact.*, **70**, 56～59 (1955).
12) 横関源延：本誌，**23**，539～542 (1958).
13) 木俣正夫・赤松幹夫：1959 年度日本水産学会年会講演 (東京).
14) 内山　均・天野慶之：1959 年度日本水産学会年会講演 (東京).
15) 横関源延：本誌，**23**，543～546 (1958).
16) 横関源延・内山　均・馬見塚利明：本誌，**24**，156～160 (1958).
17) 天羽幹夫・坂口謹一郎：農化誌，**26**，353～359 (1952).
18) R.T. O'Brien and L.L. Campbell, Jr.: *J. Bact.*, **73**, 522～524 (1957).
19) 中山大樹・多田靖次：農化誌，**33**，133～137 (1959).
20) I.J. Kliger and K, Guggenheim: *J. Bact.*, **35**, 141～156 (1937).
21) R.S. Breed, E.G.D. Murray and N.R. Smith: "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology", 7 th ed. (1957).
22) N.G. Roth and D.H. Lively: *J. Bact.*, **71**, 162～166 (1956).

抄　録

淡水魚の器官および組織の抗細菌特性　A.F. ZOTOB: *Vopr. Ixtiol*, **Vyp. 10**, 157～161 Str (1958).　グラム陰性（腸内細菌）およびグラム陽性菌（乾草細菌，黄色 *Staphylococca*）の代表株に対する7科 18 種の淡水魚の眼，骨，鰓，皮膚，筋肉，肝臓，胆のう，血液，消化管，うきぶくろ，粘液などの器官と組織の抗細菌作用について研究した。その作用の有無は肉―ペプトン寒天培地（pH = 7.4－7.6）に細菌と器官あるいは組織の一片を入れて 37°C で，20～24 時間培養した結果，それらのまわりに生ずる細菌の発育阻止帯の大小から判定された。その結果，*Lota lota* (L). の眼，胆のう，と肝臓，*Esox lucius* L の肝臓と脾臓，*Alburnus alburnus* (L). の肝臓と脾臓，*Neogobius fluviatilis* (P). の眼の外に，*Acerina acerina* G., *Blica bjoerkna* (L). 等のいずれかの器官に抗細菌性作用のあることがわかつた。さらに，*L. lota* (L), *A. alburnus* (L), *E. lucius* L. の肝臓と血液，および *Acerina acerina* G. の肝臓にはペニシリンとストレプトマイシンの耐性菌である黄色 staphylococca, 芽胞性細菌の *Bact. mycoides*, *Bact. prodigiosum* とブタの病原性グラム陽性菌に対して明らかに抗細菌性物質が存在することがわかつた。また本作用の強弱と季節との関係は明らかでなかつた。一般に鰓，筋肉および消化管には本作用は認められなかつた。（佐野）

養殖ニジマスにおけるグリコーゲン貯蔵と餌の疲労に対する抵抗　R.B. MILLER, A.C. SINCLAIR and P.W. HOCHACHKA: *J. Fish. Res. Bd. Canada.* **16** (3), 321～328 (1959).　ふ化後 277 日から pellet (Clark's pelleted dry rations) で 520 日まで飼育された群（277 日で平均 4.15 g, 520 日で 71.0 g）と Ground liver で飼育された群（5.50 g, 48.5 g）について，5分，10 分，15 分，7時間および 24 時間運動させた後の血液乳酸量，肝 glycogen 量，筋 glycogen 量，O_2 消費量および呼吸数に起る変動を調べた。実験水槽は 122×9.5 cm で 150 l/分の水量が流されており実験魚をそこで 5～15 分間巾広い paint brush で追いまわした，また,7～24時間その流水に泳がせることによつてその時間の運動とした。乳酸は Barker-Summerson 変法；Glycogen は Phenol-Sulphuric acid 法；O_2 は Micro-Winkler 法で定量された。0～15分 の運動によつて，pellet 群は liver 群よりはるかに肝及び筋 glycogen 量が高いが，乳酸量は liver 群が高い。pellet 群では肝 glycogen が 15 分まで増加したが liver 群では約半分に減少した。筋 glycogen は両群とも5分の運動で約 1/3 に減少し，その結果血中乳酸に影響して pellet 群で 10.8 (0 分)―54.3 mg % (10 分) に，liver 群では 9.3 (0 分)―31.8 mg % (10 分) に達した。7時間と 24 時間の運動で両群とも肝 glycogen は減少したが pellet 群の 3.91 (0 分)―2.81 g % (24 時) に対して liver 群は 2.59 (0 分)―0.78 g % (24 時) で 0 分の 1/4 に低下した。肝 glycogen は両群とも大差なく，また，乳酸も上昇しない。この test で pellet 餌料は抗疲労作用を有することがわかつた，すなわち，pellet 群は 24 時間の運動後でも気づかわれる状態でなかつたのに，liver 群では回復が疑わしく見られ，実際に試験中4ケ体が死亡した。血中乳酸量と呼吸数，酸素消費量の関係を調べた結果では5分の運動で乳酸量が上昇した時，呼吸数も増加するため酸素消費量が急に増加することがわかつた。また，15 分の運動後，呼吸数が6時間後でも 80 回/分以上存続することは，Black (1957) が young Kamloops trout を 15 分運動させた時に少くとも 12 時間高い血液乳酸量を保持していたと述べたことと一致する。なお，供試魚は，同一親魚から採卵され，ふ化したものである。また，飼育中の水温は 4.4～11.7°C である。（佐野）

ネズミ肝臓中のビタミン A 貯蔵におよぼす蛋白質欠乏食の影響　M. RECHCIGL, S. BERGER, J.K. LOOSLI and H.H. WILLIAMS: *Nature.* **183**, 1597 (1959).　従来の研究によると，食物中の蛋白はビタミンAの貯蔵と，その利用にとつて必要な成分であるとされている。そこでこの点を確めるために体重 50 g の白ネズミを6匹ずつ2群に分け，それぞれ蛋白欠乏食および 18% カゼイン含有食を与え，3週間後に体重変化と肝臓中のビタミンA含量を調べた。なおビタミンは GBI の B complex Dry Mix, α-tocopherol, ビタミンDを用い，ビタミンAはそのアセテート 30 I.U. を 48 時間ごとに経口投与した。この結果，蛋白欠乏食の動物は体重が平均 16 g 減じ，カゼイン含有食のものは 72 gm 増加した。また肝臓中のビタミンA含量は前者は平均 96.1 μgm (71.2 μgm/gm liver), 後者は 54.7 μgm (9.3 μgm/gm liver) であつた。カゼイン含有食の方がビタミンA含量が少ないのは多分成長のために，これが多量に必要とされたのであろう。このような実験条件では蛋白はビタミンA貯蔵のため絶対的に必要なものではないことを示している。（金光）

ビタミン A の酵素的エステル化　N.I. KRINSKY: *J. Biol. Chem.* **232** (2), 881～894 (1958).　ビタミンAは血液中では遊離アルコール，肝臓では主としてエステルとして存在する。ビタミンAをエステル化する機能は腸壁，筋肉，皮下組織，腎臓および眼の網膜などにあることが知られているが，本報は眼の組織の酵素系によるビタミンAのエステル化の機構，機能について述べる。ビタミンAエステル化酵素は眼のいろいろな組織に含まれるが，とくに色

素上皮組織に最も多い。酵素反応の至適 pH は 8.2 で，システィンのごとき SH 化合物の添加により反応は促進される。反応生成物はパルミチン酸のような長鎖脂肪酸とビタミンAのエステルであつて，酢酸エステルではない。ビタミンAアルコールの幾何学的異性体に対するエステル化の傾向は，*all trans* を 100 とすると，*neo–b* (11–*cis*) 97%，*neo–a* (13–*cis*) 60%，*iso–a* (9–*cis*) 42% であつた。これは眼に *neo–b* 型の割合が多いことを説明するものであろう。AMP，ADP，ATP は $5\times10^{-3}\sim1\times10^{-2}$ M の濃度でむしろ阻害的であり，NH_2OH および *p*-chloromercury benzoic acid は阻害するが，システィンが共存するとその阻害作用は全く消される。(永山)

植物油の酸化防止剤としての amino-hexose-reductone C.D. Evans, H.A. Moser, P.M. Cooney and J.E. Hodge: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **35** (2), 84～88 (1958). 8種類の amino-hexose-reductone (構造，性質等の詳細は追つて発表) を合成し，その酸化防止効力を，大豆油，綿実油，トウモロコシ油について，A.O.M. および酸素吸収法等により試験した。これらの reductone の効力は一般に BHA，PG 等にまさつており，0.001%の低濃度ですでに明らかで，0.02%の溶解極限に至るまで，濃度に比例して直線的に増大することを認めた。reductone は直接過酸化物に働くのではなく，前駆体に作用してその形成を妨げるものと思われる。他の酸化防止剤を併用した場合の相乗作用は，トウモロコシ油の1例だけにしか認められず，大豆油と綿実油では相加作用が大部分だつた。reductone を単独で使用すると油脂の風味に対してはほとんど効果がないが，数種類の酸化防止剤を配合して使用するとき，PG の代りに使用するとかなり良い結果が得られる。reductone のあるものは，油に独得の臭を与える欠点がある。高温あるいは高濃度で使用すると，reductone は分解して油を褐色にするが 0.01% 以下ではその影響は問題にならない。なおこのものは油脂の脱臭条件には耐えることができない。(外山)

不飽和油脂に対する酸化防止剤の相殺効果 H.S. Olcott and E. Einset: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **35** (4), 159～160 (1958). 酸化防止剤を併用したとき，それらを単独で使用した場合よりも，かえつて効果が劣る現象 (相殺効果) をトコフェロールと EMQ (6–ethoxy–2, 2, 4–trimethyl–1, 2–dihydroquinone) の場合に認め，この現象を，数種類の酸化防止剤を用いて，魚油，精製した不飽和脂肪酸，エステル，トリグリセライド，について秤量法によりその誘導期間を測定し，検討を加えた。相殺効果は，アミン系酸化防止剤とトコフェロールを併用した場合に著しく現われ，トコフェロール以外のフェノール系酸化防止剤ではほとんど認められなかつた。α トコフェロールは EMQ に対して γ トコフェロールよりも著しい相殺効果を示し，濃度の増加に伴つて強く現われる。この現象が，天然油脂中に存在する微量の重金属，リン脂質等によるものでないことは，精製した脂肪酸やエステル等においても認められることから明らかである。EMQ がオリーブ油，ピーナッツ油，綿実油，トウモロコシ油に対して酸化防止効力を示さないのは，これらの油に存在するトコフェロールのためであろう。(外山)

秤量法による水産油脂およびその他の油脂の誘導期間の測定 H.S. Olcott and E. Einset: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **35** (4), 161～162 (1958). 水産油脂およびその他の油脂に対する酸化防止剤の効力を測定する便利な方法として，酸化防止剤と油脂を小型のビーカーに秤取し，30°～80°C の恒温槽中に放置して酸素の吸収による重量の増加を一定間隔で測定する方法を検討した結果，酸化防止剤を添加するために用いた溶剤を除去する際に，揮発性の酸化防止剤では相当の損失があること，誘導期間は容器の大きさ，油脂の量と表面積，恒温槽の型式 (送風または対流) 等の影響をうけること，試験前に残存する溶剤や他の揮発性物質を完全に除去する必要があること，容器を時計皿で蔽うことにより揮発性の物質の影響を制限できること，などを認めた。この方法による測定は，他の報告とほぼ同程度の再現性があることを認めたが，魚油のように誘導期間の明瞭なものでは良い結果を示すのに対して，誘導期間の不明瞭な油脂では終点の決定が困難である。重量の変化が少ない，飽和酸の多い油脂の場合，あるいは揮発性物質の影響等は，天秤の感度に支配される。(外山)

Myoglobin の生化学 VII 牛肉の Myoglobin に対する加熱処理の影響 C. Bernofsky, J.B. Fox. J.R., and B.S. Schweigert: *Food Research* **24** (4), 339～343 (1959). 牛肉を充分に磨砕し 80°C の空気循環の恒温器中で2時間加熱する (この時の牛肉の中心温度は 60°C)。放冷後，試料肉 100 g に対して水 150 *ml* を加え，1分間混和後，遠心分離して得た上澄液の沪液について吸収を Beckman DK 分光々度計で測定し，沈降測定を Spinco model E 超遠心分離機で行なつた。この結果加熱処理した牛肉の水抽出液の赤色々素は oxy-myoglobin 95% に対して metmyoglobin 5% であつたが，対照 (加熱処理しなかつたもの) のそれは oxymyoglobin 80% に対して metmyoglobin 20% であつた。このことは加熱処理によつて met-myoglobin が myoglobin に還元されるのか，あるいは metmyoglobin が還元型の myoglobin より速やかに変性するのかを示すものと考えられるが，いずれにしても加熱処理した牛肉の赤色々素は oxymyoglobin であることを認めた。また加熱処理による牛肉中の myoglobin の熱変性に対する加熱温度と時間について検討した。80°C では myoglo-bin の 89% 以上は変性したが，65°C あるいはそ

れ以下の温度でもかなり変性した。純粋な myoglobin 溶液の場合 65°C 以下ではほとんど熱変性しないことから，この場合 80°C における myoglobin の変性は加熱による熱変性であるが， 65°C 以下での変性は熱変性でなく酵素作用あるいは共沈によるものと思われる。(小泉)

一般的食品腐敗微生物に対する数種の抗生物質の発育阻止効果 J.B. KLIS, L.D. WITTER and Z.J. ORDAL: *Food Technology* **13** (2), 124～128 (1959). 黴，酵母を含む一般的食品腐敗微生物 16 種に対する 6 種の抗生物質 griseofulvin, actidione, fungizone, nystatin, rimocidin, myprozine とソルビン酸の発育阻止効果を比較検討した。供試菌は純培養のもので，実験方法は平板培養法と振盪培養法を用い，培養温度はいずれも 25°±2°C で行なつた。培養時間は 96 時間とし発育しなかつた場合には平板培養法ではさらに 10 日間，振盪培養法では抗生物質の入つていない液体培地に移植して 72 時間培養を続けた。この両培養法で得られた結果は一致し供試菌の発育阻止能力の大きいものから抗生物質を並べるとつぎのようになる； myprozine, rimocidin, nystatin, fungizone, actidione, griseofulvin. しかし myprozine と rimocidin とでは僅かの差しかなく，すべての供試菌 25 p.p.m. はあるいはそれ以下の濃度で，また nystatin では 100 p.p.m. で 96 時間培養の間発育が阻止された。また供試抗生物質のうち最も効力の弱かつた grisofulvin は酵母には作用せず Sclerotinia fructicola だけに作用した。Aspergillus niger と Zygosaccharomyces barkerii 以外の全供試菌はソルビン酸の 500 p.p.m. で 96 時間完全に発育を阻止された。以上のように一般的食品の品質低下に関係のある微生物の発育をいくつかの低濃度の抗生物質で実験室的に阻止できることを認めた。(小泉)

魚類燻製品の貯蔵に対するソルビン酸塩の使用の効果 J.J. GEMINDER: *Food Technology* **13** (8), 459～461 (1959). 予備実験で Salmon と Whitefish に燻製前あるいは燻製後に 5% ソルビン酸ソーダ（またはカリウム）溶液を噴霧した場合と，ソルビン酸ソーダ溶液に浸漬した場合について，燻製品の貯蔵性を検討したが，いずれの場合でも魚体に対して 0.03～0.05% のソルビン酸が製品に附着しかなり貯蔵性を高めたので，さらに Whitefish Chubs (内臓ぬき), Sable fish (切身), Herring (全魚体), Whiting (内臓ぬき) を燻製した後 10% ソルビン酸ソーダ溶液を噴霧し mylar で真空包装して 40°F で貯蔵試験を行つた。

同時に魚の鰭で包装材に孔があいた場合を考慮して，包装材に孔をあけた場合も合せて貯蔵試験した。

Salmon の切身の場合は 10% のソルビン酸ソーダ溶液と 5% erythorbate の溶液の混合物を噴霧した。肉眼的に酵母と黴の発育の有無を調べた結果，包装材に孔をあけた場合ソルビン酸ソーダ溶液で処理した試料は魚体に対して 0.05～0.15% のソルビン酸が製品に附着し，対照に比してその貯蔵期間を 2 倍に延長することができた。また Salmon の切身の場合 erythorbate の使用により Salmon の色調の劣化を防止することができた。(小泉)

***B. megaterium* 芽胞中の金属含量の変化とその性質** R. SLEPECKY and J.W. FOSTER: *J. Bact.*, **78** (1), 117～123 (1959). 培養基中の金属濃度を種々変化させて芽胞を形成させ，その芽胞中の金属含量を測定した。その結果，培養基中の濃度により芽胞中の金属濃度は広い範囲にわたつて変化する。特に蓄積量のいちじるしい金属は Ca, Ni 次いで Zn, Mn であつた。芽胞形成に必須の金属は Mn だけであつたが，Zn あるいは Ca を加えないと芽胞形成の率を減少させる。芽胞による Ca の吸収は同時に存在する他の金属によつて影響され，特に Zn, Ni, Mn が多量に存在すると，Ca の吸収は減少する。このように芽胞中の金属カチオンはある程度交換し得るもののようである。またこのような各種金属含量の異なる芽胞でも形態，染色性，屈折率については相異が認められず，紫外線，乾燥やフェノールに対する抵抗性もほとんど変りない。しかし Zn, Mn の多い，すなわち相体的に Ca の少ない芽胞はその約半数の芽胞は熱に対する抵抗性が弱く，70°C 10 分の加熱で死滅する。このような事実から，芽胞の強い熱抵抗のためには Ca の存在が必要であることが判る。(横関)

産卵洄游中におけるベニマスの生化学的研究–V. 標準魚体中のコレステリン，脂肪，蛋白，水分量の変化 O.R. IDLER and I. BITNERS: *J. Fish. Res. Bd. Canada.*, **16** (2), 235～241 (1959). 産卵洄游中の体成分の変化をみるため Fraser 河の三地点すなわち，河に入る前，途中，産卵場において捕獲した多数のベニマスを試料とし，肉とその他の部分（頭，皮，骨，尾，ただし内臓は含まぬ）とに分け，雌雄別に全重量，水分，脂肪，蛋白性N，コレステリンの測定を行ない，統計的に標準魚体に対するものとして示した。%規準でみると，産卵洄游の終りに近づくにつれ，水分はやや増し，脂肪はいちじるしく減少し，蛋白質は肉ではやや減り，その他の部分では一定であつた。単位重量当りのコレステリン量は肉ではやや増加し，その他の部分では産卵洄游の途中で極大に達し，産卵の際には減少する。つぎに絶対量規準でみると水分の雌の場合，肉においては減少するがその他の部分では増加し，全魚体では一定である。雄の場合は肉でもその他の部分でも増加するが肉以外の部分の増加の方がいちじるしい。脂肪は肉でもその他の部分でも減少するが肉における減少の方がその他の部分よりも時期的に早く起る。雌の減少は雄よりも甚だしい。蛋白質は肉では段々と減少し，その他の部分では一旦へり，その後また増加する。全コレステリン量は肉以外の

部分では雌雄ともに増加するが遊離のコレステリン量はかえつて減少する。肉では全コレステリン量は雄の場合増加し，雌の場合縮少する。遊離コレステリンの全コレステリンに対する割合は雄の肉では減少し，雌では増加する。つぎに産卵洄游中における消費エネルギーは河に入る前より途中の地点までで雌で 1.57 Cal/kg/km，雄で 1.28 Cal/kg/km であり，途中の地点より産卵場に至るまでに雌では 0.85 Cal/kg/km，雄では 0.60 Cal/kg/km であつた。すなわち全産卵洄游中に雌は雄より 32% 以上のエネルギーを消耗する。(衣巻)

魚類血液中の glucose 定量法—FOLIN. MALMROS 法の検討 LEONARD R. MURRELL and PAUL E. NACE: *Can. J. Biochem. Physiol.*, **38**, 1121～1124 (1958).　魚類の血糖定量に際して生ずる最も大きな困難は除蛋白の問題であり，哺乳動物血液に対して用いられている方法をそのまま適用することができない。著者等は FOLIN. MALMROS 法で除蛋白剤として用いられているタングステン酸溶液（水 480 *ml* に 10% タングステン酸ソーダ 10 *ml*，0.67 N 硫酸 10 *ml* を加えて調製）の使用量を原法の 10 倍（血液 0.1 *ml* に対して 10 *ml*）として好結果をえた。また glucose の定量法をつぎのように修正した。上述の除蛋白液 0.5 *ml* をタングステン酸溶液 0.5 *ml* を含む比色管にとり，これに 0.025% 赤血塩溶液 0.5 *ml* を加え 15 秒間沸騰水浴中で加熱する。つぎに 0.5 *ml* の緩衝液 (Na_2CO_3 4 g，1 % NaCN 75 *ml* を水に溶解し 500 *ml* に稀釈）を加え pH を 10.5～11.0 に保ちながら，さらに 15 分間沸騰水浴中で加熱する。冷却してから sodium lauryl sulphate 溶液（0.1 g 硫酸第二鉄アンモン，85%燐酸 5 *ml*. 0.3 g sodium lauryl sulphate を水に溶解し 100 *ml* とする）1 *ml* および 3 *ml* の水を加え，10 分後に 630～640 mμ で比色定量する。gum gatti のかわりに sodium lauryl sulphate を用いると還元性物質の混入がなく誤差が少なくなる。本法を用いて Opsanus および Ictalums の二種の血糖を測定したが，15～250 mg% で従来の方法と精度は変らないが再現性にとんでいる。(岡市)

雑　　　録

○ 関東在住緊急役員会

1. **開催日**　昭和 34 年 10 月 16 日
2. **場　所**　東京水産大学会議室
3. **出席者**　田内会長他 11 名
4. **議　事**

a．朝日賞および大河内賞候補論文の推薦について。

本年度は水産学会としてはいずれも候補論文の推薦を行わないことに決定した。

b．渉外関係

交換開始 2 件（25 巻 1 号より）

1. Estacion de Biologia marina, Universidad de Chile. 受入書目は Revista de Biologia marina. (10—7).
2. Department of the Interior, Fish and Wildlife Service, Bureau of Commercial Fisheries, Biological Laboratory (Woods Hole). 受入書目不詳 (10—13).

c．入会承認　個人 2 名

○ 評 議 員 会

1. **開催日**　昭和 34 年 10 月 25 日
2. **場　所**　大阪府立大学農学部会議室
3. **出席者**　田内会長他 39 名
4. **議　長**　内田恵太郎氏
5. **議　事**

1. 海洋学総合研究所設立運動の経過報告（前号参照）　東 海 区 水 研　栗　田　晋氏
2. 業界研究連絡準備委員会の経過報告　東京水産大学　野 中 順 三 九氏
3. 海外会員制を新たに設ける件

海外会員制を新たに設ける案が提出され承認された。ただし，昭和 35 年以降に新制度を設けることとし，会告その他の文案は引続き審議することにした。また会費は個人会員は 7 ドルに決定，団体会員は 10 ドル案が示されたが，さらに設置の可否を検討したうえで決定することになつた。

4. 学術会議会員選挙における学会推薦候補者の決定の経過報告

全国区候補者森高次郎氏および猪野俊氏，地方区（北海道区）候補者犬飼哲夫氏を第 5 期学術会議会員選挙における水産学会推薦候補者として決定した経過について報告した。

5. 学会誌の各号発行期日の変更について

現在毎年 5 月に 1 号を発行しているが，これを毎年 1 月に 1 号が発行できるよう変更する案が提出され，了承された。本件は編集会議等で検討の上実施に移すこととになつた。

6. 農学賞および水産学会賞以外の各賞（朝日賞等）の推薦論文詮衡委員会（仮称）を設置する案が提出され，来年度 4 月評議員会までに設置案を準備することになつた。

○ 昭和 34 年度日本水産学会中国四国支部大会

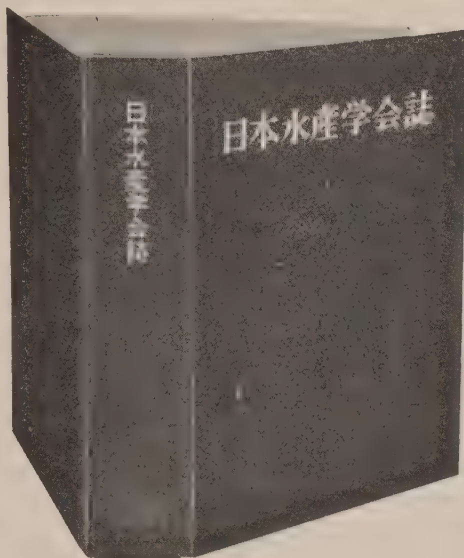
特別講演　（10 月 29 日）　於高知県漁連会議室

○ 築磯について……………………………………………………東大教授　大　島　泰　雄

研究発表　(10 月 30 日)　　於高知大丸四階会議室

1. マグロ・カジキ類皮膚におけるビタミン B_2 ……………… °清水泰幸・日笠七郎 (南水研)
2. キハダ・メバチの DNA の塩基構成率について…… 藤井　豊・°見元孝一・日笠七郎 (南水研)
3. マグロ類 DNA の抗原性について……………………… °藤井　豊・日笠七郎 (南水研)
4. マグロ類血清抗原の寒天平板拡散法による予備検討………… °鈴木秋果・森尾忠夫 (南水研)
5. 懸濁質係数と懸濁粒子径との関係……………………… °花岡　資・古川　厚 (内水研)
6. キハダの仔稚魚について………………………………………矢部　博 (南水研)
7. マカジキの仔稚魚…………………………………………………上柳昭治 (南水研)
8. マグロ・カジキ類の食餌組成………………………………………渡辺久也 (南水研)
9. キハダの産卵季の海域的差異………………………………………木川昭二 (南水研)
10. 海産管棲端脚類 Corophium archerusicum の生態に関する二，三の観察….遠部　卓 (広　大)
11. タマミジンコの冬卵に寄生する Aphanomyces 菌の感染実験 ……………村上　豊 (広　大)
12. 桝網の漁獲について—I　漁獲量と潮差との関係………………………角田俊平 (広　大)
13. キハダ鱗にみられる輪紋について (予報) ………………… °薮田洋一・行縄茂理 (南水研)
14. キハダの肥満度および体長と体重の関係………………… °上村忠夫・本間　操 (南水研)
15. 冬季における印度洋の海況とマグロ類の漁況……………… °山中　一・安楽　昇 (南水研)

会誌 論文集 合本用ファイル (B5判) 実費頒布御通知



水産学会誌1年分を簡単に製本出来る。

冊誌を傷めず保存できる。

穴をあけず，糊も使わず合本出来る。

中の何れでも取外しが簡易。

頒価	厚さ 4.5 cm	¥ 120
	〃 6.0 cm	¥ 130
		〒 ¥ 20

御希望の向は代金を添え日本水産学会事務局へ御申越下さい。

○学会所定原稿用紙価格 送料共 金 100 円

昭和三十四年十一月二十日 印刷
昭和三十四年十一月二十五日 発行

第二十五巻 第七〜九

本号定価 140 円 (送料別)

編集兼発行者 久保伊津男
東京都港区芝海岸通り6丁目 東京水産大学内

発行所 日本水産学会
東京都港区芝海岸通り6丁目 東京水産大学内
振替口座 東京 59529番
電話 (45) 2200番

印刷者 笠井康頼

印刷所 株式会社 国際文献印刷社

発売所 株式会社 国際文献印刷社
東京都新宿区山吹町184
電話 (34) 7446

ON THE FALCIFORM PROCESS, VITREAL VESSELS AND OTHER RELATED STRUCTURES OF THE TELEOST EYE
I. VARIOUS TYPES AND THEIR INTERRELATIONSHIP

Isao HANYU*

(*Received July 13, 1959*)

Introduction

Many morphological studies having been devoted to the falciform process, vitreal vessels and other related structures which are notable features of the teleost eye; thus, detailed information concerning these structures is available in the papers and reviews of such authors as VIRCHOW,[1),2)] FRANZ,[3),4),5)] WALLS[6)] and others.[7),8),9),10),11),12),13)]

According to WALLS,[6)] the falciform process is a protrusion of the vascular choroidal tissue into the vitreous cavity through the embryonic fissure in the retina which remains throughout the life of many teleost species, while it has a tendency to be restricted distally owing to a partial healing of the embryonic fissure in some species, the healing itself, when it has occurred, being always in the proximal→distal or optic disc→ora terminalis direction. Where the falciform process is wholly lacking or in some instances where it is present only far distally, there is a system of vitreal vessels clinging to the inner surface of the retina. As the falciform process is fed by the same artery as would otherwise supply the vitreal vessels, the two structures are not concomittant with one another.

While studying the vascularization of these structures in various species, the author has arrived at a finding of an entirely different meaning concerning the relationship between these structures.

Material and Methods

The fish were fixed and kept in formalin. The eyes were excised and after removal of the cornea, the iris except its ventral part and the lens, the remaining part the eye was examined under a binocular microscope. Sometimes, for more minute observations, injections of India ink were made into the hearts of live fish prior to fixation.

Several fish both large and small, were examined in many species to check any individual variation in their above mentioned structures; however, this variation was negligible as far as the division of types described later was concerned.

Ophthalmoscopy was also performed on some species in order to confirm the direction of the blood flow in the structures. The fish was wrapped in a cloth, tied with

* Fish. Inst. Fac. Agr., Nagoya University.

flexible wires, and suspended in an aquarium in such a manner as to hold its head motionless and bring one of its eyes close to one of the glass walls of the aquarium. In total darkness, the indirect method of ophthalmoscopy through the glass wall was practised using an ordinary ophthalmoscope (+10−+18D. lens) and an auxiliary convex lens (+40D.). By this method, though the fundus of the eye was clearly observed in most species, the blood flow or the stream of the blood corpuscles could be recognised distinctly in only a few species, the representative ones of which are to be described.

The number of fish examined totalled 266 species belonging to 128 families (Table 1).*

Table 1. Teleost species examined and types of the structures of their eyes. A, a low falciform process; B, a higher falciform process; C, a very high falciform process; D, a low falciform process with branches on the retina; E-a, vitreal vessels over the retina with the embryonic fissure; E-b, vitreal vessels over the retina without the embryonic fissure; F, retinal vessels; G, an unusual instance (see text).

Family & species	Type of structure
Elopidae	
Elops machnata	A
Pterothrissidae	
Pterothrissus gissu	A
Dorosomatidae	
Konosirus punctatus	A
Dussumieridae	
Spratelloides japonicus	A
*Etrumeus micropus**	A
Clupeidae	
Sardinops melanosticta	A
Harengula zunasi	A
Engraulidae	
*Engraulis japonica**	E-a
Gonorhynch idae	
Gonorhynchus abbreviatus	E-b
Salmonidae	
Oncorhynchus rhodurus var. *macrostomus**	B
Salmo gairdnerii irideus	A
Salvelinus pluvius	A
Plecoglossidae	
Plecoglossus altivelis	E-a
Osmeridae	
Hypomesus olidus	E-a
Salangidae	
Salangichthys microdon	E-a
Argentinidae	
Argentina kagoshimae	A
A. semifasciata	A
Microstomidae	
Nansenia ardesiaca	A
Gonostomatidae	
Yarrella illustris	E-b
Sternoptychidae	
Polyipnus spinosus	G
P. asteroides	G
Aulopodidae	
Hime japonica	A
Chlorophthalmidae	
*Chlorophthalmus albatrossis**	A
Synodontidae	
Synodus variegatus	A
Trachinocephalus myops	A
*Saurida undosquamis**	B
Myctophidae	
Neoscopelus microchir	G
N. macrolepidotus	G
Diaphus glandulifer	E-b
D. anteorbitalis	E-b
Notoscopelus elongatus	E-b
Ateleopidae	
Ateleopus purpureus	G
Cyprinidae	
Hemibarbus barbus	E-b
Tribolodon hakonensis hakonensis	E-b
Zacco platypus	E-b
Z. temmincki	E-b
*Carassius auratus**	E-b
Cyprinus carpio	E-b

* Identifications were based upon MATSUBARA[14].

Misgurnus anguillicaudatus	E-b
Siluridae	
Parasilurus asotus	E-b
Plotosidae	
*Plotosus anguillaris**	E-b
Bagridae	
Pelteobagrus undiceps	E-b
Anguillidae	
Anguilla japonica	F
Congridae	
Anago anago	F
Congriscus megastomus	F
*Astroconger myriaster**	F
Rhynchocymba nystromi nystromi	F
Muraenesocidae	
Muraenesox cinereus	F
Oxyconger leptognathus	F
Ophichthidae	
Ophichthus roseus	F
O. tsuchidai	F
Ophisurus macrorhynchus	F
Muraenidae	
Gymnothorax reticularis	F
Cyprinodontidae	
Oryzias latipes	G
Belonidae	
*Ablennes hians**	G
Tylosurus leiurus	G
Hemiramphidae	
Hemiramphus sajori	G
Exocoetidae	
*Exocoetus volitans**	G
Cypselurus japonicus	G
Gasterosteidae	
Gasterosteus aculeatus microcephalus	E-a
Fistulariidae	
Fistularia villosa	G
Macrorhamphosidae	
*Macrorhamphosus scolopax**	D
Syngnathidae	
*Trachyrhamphus serratus**	E-b
Berycidae	
*Beryx splendens**	A
Trachichthyidae	
Gephyroberyx japonicus	A
Hoplostethus mediterraneus	A
Holocentridae	
Holocentrus spinosissimus	A
Polymixiidae	
*Polymixia japonica**	B
Monocentridae	
Monocentris japonicus	A
Grammicolepidae	
Xenolepidichthys dalgleishi	A
Zeidae	
Zeus japonicus	B
*Zenopsis nebulosa**	B
Zen itea	A
Zenion japonicum	A
Mugilidae	
*Mugil cephalus**	G
Sphyraenidae	
*Sphyraena picuda**	C
S. pinguis	B
S. japonica	B
Channidae	
Channa argus	E-b
Scombridae	
Parathunnus obesus	C
Neothunnus albacora	C
Katsuwonus pelamis	C
*Scomber tapeinocephalus**	B
S. japonicus	B
*Scomberomorus sinensis**	C
Histiophoridae	
*Makaira mitsukurii**	C
M. formosana	C
*M. mazara**	C
Histiophorus orientalis	C
Acinaceidae	
Lepidocybium flavo-brunneum	A
Neoepinnula orientalis	A
*Rexea solandri**	A
Lepidopidae	
Lepidopus tenuis	A
Trichiuridae	
*Trichiurus lepturus**	A
Coryphaenidae	
*Coryphaena hippurus**	C
Carangidae	
Trachurus japonicus	A
*Seriola quiqueradiata**	B
S. purpurascens	B
Leiognathidae	
Leiognathus rivulatus	G
Stromateidae	
Psenopsis anomala	A
Pempheridae	
Pempheris umbrus	B
Trichodontidae	
Arctoscopus japonicus	E-a
Oplegnathidae	
Oplegnathus punctatus	D
*O. fasciatus**	D
Mullidae	
Upeneus bensasi	A
Cepolidae	
Cepola schlegeli	A

Acanthocepola limbata	A
Branchiostegidae	
Branchiostegus japonicus japonicus	A
Apogonidae	
Apogonichthys carinatus	D
Apogon lineatus	D
A. kiensis	D
A. semilineatus	D
Synagrops japonicus	A
Priacanthidae	
*Priacanthus boops**	C
Pseudopriacanthus niphonius	C
Pomatomidae	
*Scombrops boops**	B
Histiopteridae	
Histiopterus typus	A
Quinquarius japonicus	A
Serranidae	
Döderleinia berycoides	B
Malakichthys wakiyai	A
M. griseus	B
*Lateolabrax japonicus**	B
*Epinephelus fario**	D
*E. moara**	D
E. septemfasciatus	D
E. epistictus	D
E. fasciatus	D
Niphon spinosus	D
Chelidoperca hirundinacea	D
Sciaenidae	
Nibea mitsukurii	A
Sillaginidae	
Sillago sihama	D
S. japonica	D
Girellidae	
Girella punctata	D
Sparidae	
Evynnis japonica	A
*Rhabdosargus sarba**	A
Mylio macrocephalus	A
Chrysophrys major	A
Lethrinidae	
Lethrinus choerorhynchus	A
Nemipteridae	
Nemipterus bathybus	A
Pentapodidae	
Taius tumifrons	A
Pomadasyidae	
Parapristipoma trilineatum	B
Plectorhynchus cinctus	B
Theraponidae	
*Therapon oxyrhynchus**	B
Parapercidae	
*Neopercis sexfasciata**	D
N. aurantiaca	D
Owstonidae	
Owstonia grammodon	A
Champsodontidae	
Champsodon snyderi	A
Uranoscopidae	
Uranoscopus japonicus	A
Zalescopus tosae	A
Gnathagnus elongatus	A
Callionymidae	
*Calliurichthys japonicus**	A
C. doryssus	D
Callionymus richardsoni	D
C. lunatus	A
C. virgis	D
Synchiropus altivelis	D
Pholidae	
Enedrias nebulosus	E-a
Zoarcidae	
*Petroschmidtia toyamensis**	E-a
Lycodes nakamurai	E-a
L. tanakai	E-a
Allolepis hollandi	E-a
Brotulidae	
Neobythites fasciatus	E-b
N. sivicolus	E-b
Itatius microlepis	E-b
Ophidiidae	
Otophidium asiro	E-b
Gobiidae	
*Acanthogobius flavimanus**	E-b
Glossogobius giuris brunneus	E-b
Chaeturichthys hexanema	E-b
Periophthalmus cantonensis	E-b
Embiotocidae	
Ditrema temmincki	D
Labridae	
*Choerodon azurio**	E-a
Thalassoma cupido	E-a
Pseudolabrus japonicus	E-a
Halichoeress poecilopterus	E-a
Iniistius dea	E-a
Scaridae	
Leptoscarus japonicus	E-a
Scorpididae	
*Microcanthus strigatus**	D
Antigoniidae	
Antigonia capros	A
Acanthuridae	
*Prionurus microlepidotus**	A
Siganidae	
Siganus fuscescens	A
Triacanthodidae**	
Triacanthodes anomalus	A

Macrorhamphosodes uradoi	A
Triacanthidae**	
Triacanthus brevirostris	A
Balistidae**	
Canthidermis rotundatus	A
Aluteridae**	
Stephanolepis cirrhifer	A
Navodon modestus	A
Aracanidae**	
Kentrocapros aculeatus	A
Ostraciontidae**	
*Rhinesomus concatenatus**	B
Tetraodontidae**	
Canthigaster rivulatus	A
Liosaccus cutaneous	A
Lagocephalus lunaris	A
Fugu vermicularis vermicularis	A
F. pardalis	A
Arothron stellatus	A
Scorpaenidae	
*Sebastes inermis**	D
S. oblongus	D
Sebasticus marmoratus	D
Helicolenus hilgendorfi	D
Pterois lunulata	D
Setarches longimanus	A
Apistus carinatus	D
Synanceiidae	
Minous monodactylus	D
M. inermis	D
Inimicus japonicus	D
Congiopodidae	
Ocosia vespa	D
Hypodytes rubripinnis	D
Erisphex potti	G
Hexagrammidae	
Hexagrammos otakii	E-a
Bembridae	
Bembradium roseum	D
Bembras japonicus	D
Bembradon laevis	D
Platycephalidae	
Suggrundus meerdervooti	A
Cociella crocodila	D
*Platycephalus indicus**	A
Hoplichthyidae	
*Hoplichthys langsdorfii**	D
H. gilberti	D
H. filamentosus	D
Cottidae	
Markawichthys ambulator	D
Stlengis misakia	D
*Icelus spiniger cataphractus**	D
*Malacocottus gibber**	D
Artediellus pacificus pacificus	D
Pseudoblennius percoides	D
Psychrolutidae	
Cottunculus brephocephalus	D
Agonidae	
Percis matsuii	D
Triglidae	
Chelidonichthys kumu	A
Pachytrigla alata	A
Lepidotrigla güntheri	A
Peristediidae	
Peristedion orientale	A
P. nierstraszi	A
Satyrichthys amiscus	A
S. engyceros	A
Cephalacanthidae	
Daicocus peterseni	A
Cyclopteridae	
Cyclolumpus asperrimum	D
Liparidae	
Crystallias matsushimae	G
Echeneidae	
*Remora remora**	A
Rhombochirus megalodiscus	A
Bothidae	
Pseudorhombos pentophthalmus	D
*Chascanopsetta lugubris**	E-a
Paralichthys olivaceus	D
Pleuronectidae	
*Hippoglossoides dubius**	D
Cleisthenes pinetorum herzensteini	D
Eopsetta grigorjewi	E-a
Pleuronichthys cornutus	D
Limanda yokohamae	D
Dexistes rikuzenius	E-a
Kareius bicoloratus	D
Tanakius kitaharai	E-a
Microstomus achne	D
Soleidae	
Zebrias japonicus	E-a
Cynoglossidae	
Rhinoplagusia japonica	E-a
Moridae	
Lotella phycis	G
Gadidae	
Theragra chalcogramma	A
Bregmacerotidae	
Bregmaceros japonicus	G
Coryphaenoididae	
Coelorhynchus multispinulosus	G
C. kamoharai	G
C. hubbsi	G
C. gilberti	G
Ventrifossa misakia	G

Lophiidae		Chaunacidae	
Lophius litulon	G	*Chaunax fimbriatus**	G
Lophiomus miacanthus	G	Oncocephalidae	
Antennariidae		*Malthopsis lutea*	G
Pterophryne histrio	G	*Halieutaea stellata*	G
Antennarius tridens	G		

* The species are illustrated either by text-figures or by photos in the plates.

** The species of these families belonging to Tetraodontina or Plectognathi have no vitreal vessels in spite of TRETJAKOFF's description[13] and following citations[5)6] of it.

Results

The results of the observations shall be described in the following order of types or groups into which these various structures herein have been divided: from A to D, four types of the falciform process; E, vitreal vessels; F, retinal vessels; G, other unusual instances.

Having examined the eyes of many species, the author would like to consider the falciform process as a vascular structure protruding into the vitreous cavity along the embryonic fissure, regardless of whether it is attended with choroidal tissue or membrane, or not, even though the process previously was defined as a protrusion of the vascular choroidal tissue. From the standpoint of vascularization, the author believes that the various falciform processes can be divided into four types which show successive stages of differentiation.

A. The low falciform process.

This type of falciform process is well represented by the eye of *Rhabdosargus sarba*. In *R. sarba*, as may be seen in Fig. 1–A, a thick vessel which is undoubtedly derived from the hyaloid artery—Arteria centralis retinae, hyaloidea or ophthalmica interna[5]—and which is called the main vessel herein, appears at the ventral end of the almost vertically elongate optic disc and runs ventrally along the embryonic fissure, finally to reach the lens muscle or campanula Halleri based on the iris, thereby being accompanied by the nerve of the lens muscle. If carefully observed, it will be noticed that the main vessel sends out fine branches into the embryonic fissure. Some of these branches are also sent to "Dreiecke"[2] or "Kegelformiges Gebilde"[2] which is a small, thin triangular body rising above the lips of the embryonic fissure from within. Little attention has been paid to "Dreiecke" and it is histologically unknown.

In *Platycephalus indicus* (Fig. 1–B), some branches of the main vessel are also sent dorsally above the optic disc. This part of these branches is called "Dorsaler Anhang"[2] or dorsal appendix.[6]

Among these low falciform processes, which do not rise much above the retinal surface, are very low ones as seen in *Rexea solandri* (Fig. 1–C), proximally high ones, as seen in *P. indicus* and *Trichiurus lepturus* (Fig. 1–D), only distally membranous ones as seen in *Beryx splendens* (Fig. 1–E), *Prionurus microlepidotus* (Fig. 1–F),



Fig. 1. Examples of the low falciform process (in the section of the eye along the embryonic fissure). A, *Rhabdosargus sarba*; B, *Platycephalus indicus*; C, *Rexea solandri*; D, *Trichiurus lepturus*; E, *Beryx splendens*; F, *Prionurus microlepidotus*; G, *Chlorophthalmus albatrossis*; H, *Calliurichthys japonicus*; I, *Remora remora*; J, *Etrumeus micropus*. CH, choroid; DA, "Dorsaler Anhang"; DE, "Dreiecke"; IR, iris; LM, lens muscle; MV, main vessel; NLM, nerve of lens muscle; ON, optic nerve; OR, ora terminalis; PL, pigment layer of retina; RE, retina; SC, sclera.

Chlorophthalmus albatrossis (Fig. 1–G) and *Calliurichthys japonicus* (Fig. 1–H), and wholly membranous ones with the main vessel running along the upper (dorsal) edge, as seen in *Remora remora* (Fig. 1–I). In *Etrumeus micropus* (Fig. 1–J), the base of the well pigmented lens muscle is not confined to the iris region, but extended to the distal part of the embryonic fissure.

In *Triacanthus brevirostris*, the blood flow in the main vessel was confirmed ophthalmoscopically to have proximal→distal or optic disc→lens muscle direction.

This type is the most common and was found in the species referred to as A in Table 1.

B. The higher falciform process.

This is the type in which the vascularization rises to a small extent into the vitreous cavity. Among these higher falciform processes are simple ones, as seen in *Saurida undosquamis* (Fig. 2–A), *Polymixia japonica* (Fig. 2–B) and *Scombrops boops* (Fig. 2–C), somewhat complex ones, as seen in *Scomber tapeinocephalus* (Pl, I, Fig. 1),

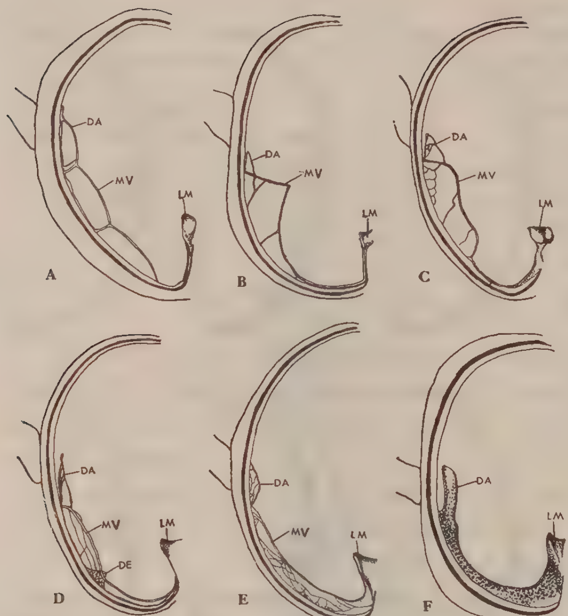


Fig. 2. Examples of the higher falciform process (in the section of the eye along the embryonic fissure). A, *Saurida undosquamis*; B, *Polymixia japonica*; C, *Scombrops boops*; D, *Therapon oxyrhynchus*; E, *Rhinesomus concatenatus*; F, *Oncorhynchus rhodurus* var. *macrostomus*. Lettering as before.

Seriola quinqueradiata (Pl. I, Fig. 2), *Therapon oxyrhynchus* (Fig. 2–D), *Rhinesomus concatenatus* (Fig. 2–E) and *Lateolabrax japonicus* (Pl. I, Fig. 3) and membranous ones, as seen in *Oncorhynchus rhodurus* var. *macrostomus* (Fig. 2–F) and *Zenopsis nebulosa* (Pl. I, Fig. 4).

Of these species, *P. japonica*, *Scombrops boops*, *Scomber tapeinocephalus*, *O. rhodurus* and *Z. nebulosa* have either partly or wholly pigmented falciform processes. Thus in this type various extents of both vascularization and pigmentation may be found.

In *L. japonicus*, the blood flow in the main vessel was confirmed ophthalmoscopically to have proximal→distal direction.

This type is not so common and was found in the species referred to as B in Table 1.

C. The very high falciform process.

This is the most developed type and includes representative falciform processes.

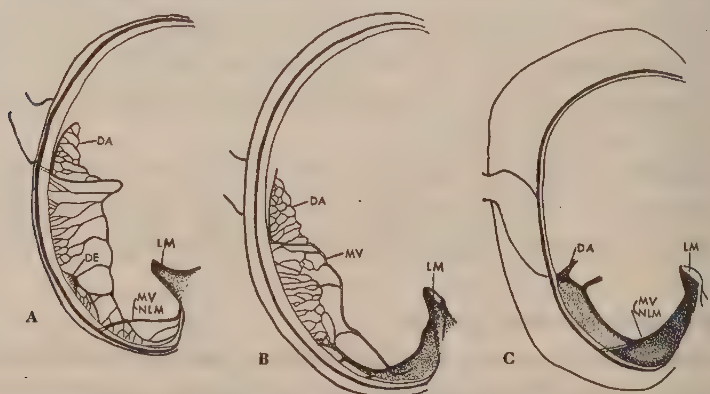


Fig. 3. Examples of the very high falciform process (in the section of the eye along the embryonic fissure). A, *Priacanthus boops*; B, *Sphyraena picuda*; C, *Makaira mazara*. Only B is unpigmented. Lettering as before.

In *Priacanthus boops* (Fig. 3–A and Pl. I, Fig. 5), *Sphyraena picuda* (Fig. 3–B) and *Scomberomorus sinensis* (Pl. I, Fig. 6), the falciform process consists of a large, sickle-shaped vascular net obviously originating from the main vessel, while in *Makaira mazara* (Fig. 3–C), *Makaira mitsukurii* (Pl. I, Fig. 7) and *Coryphaena hippurus* (Pl. I, Fig. 8) it consists of a broad, black membranous band, whose most probable construction is also a network of fine branches from the main vessel attended by other material including choroidal tissue.

This type is rather rare and was found in the species referred to as C in Table 1.

D. The low falciform process with branches on the retina.

In contrast to the above mentioned vascularization into the vitreous cavity, there is another mode of vascularization in which constantly unpigmented branches of the main vessel are sent out onto the retina, or more precisely, onto a delicate transparent membrane composing the vitreo-retinal boundary. This membrane is called " Glaskörperhaut "[5] and distinguished from the internal limiting membrane of the retina. This

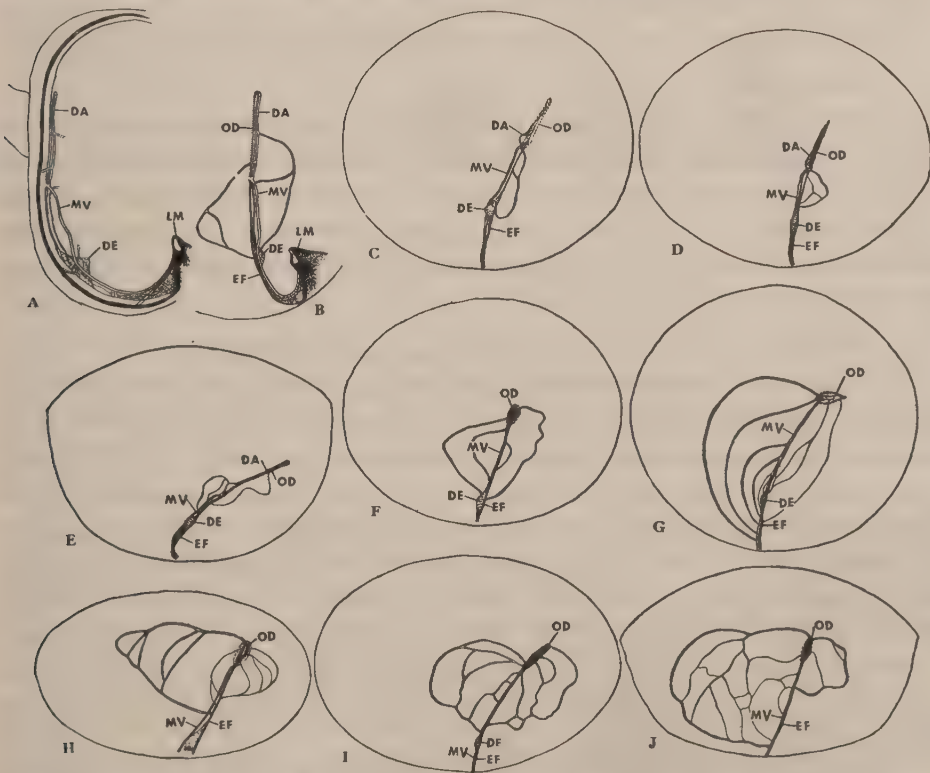


Fig. 4. Examples of the low falciform process with branches on the retina (in the front view of the eye except A which is shown in section). A & B, *Epinephelus moara*; C, *Oplegnathus fasciatus*; D, *Microcanthus strigatus*; E, *Neopercis sexfasciata*; F, *Malacocottus gibber*; G, *Macrorhamphosus scolopax*; H, *Hoplichthys langsdorfii*; I, *Icelus spiniger cataphractus*; J, *Hippoglossoides dubius*. EF, embryonic fissure; OD, optic disc. Other lettering as before.

vascularization onto the retina has been neglected in almost all literatures* on this subject.

An example of this type is *Epinephelus moara* (Fig. 4–A, –B), in which somewhat thick branches springing from " Dorsaler Anhang " as well as from the main vessel run in arcs onto the retina both nasal and temporal to the embryonic fissure, finally to reach and go into the fissure in the vicinity of " Dreiecke ", and consequently do not rejoin the main vessel. In the branches, both dichotomy and anastomosis are present. As seen in *Oplegnathus fasciatus* (Fig. 4–C), *Microcanthus strigatus* (Fig. 4–D), *Neopercis sexfasciata* (Fig. 4–E), *Malacocottus gibber* (Fig. 4–F), *Sebastes inermis* (Pl. II, Fig. 1), *Epinephelus fario* (Pl. II, Fig. 2), *Macrorhamphosus scolopax* (Fig. 4–G), *Hoplichthys langsdorfii* (Fig. 4–H), *Icelus spiniger cataphractus* (Fig. 4–I) and *Hippoglossoides dubius* (Fig. 4–J), there is a considerable variation among species in both the vascularization and the vascularized area covering the retina.

In *E. fario*, the blood flow was confirmed ophthalmoscopically to have proximal→ distal and main vessel→branches direction.

This type is fairly common, being found in the species referred to as D in Table 1.

E. Vitreal vessels.

In the type of vitreal vessels, vascularization is developed extensively over the retina, as seen in *Choerodon azurio* (Pl. II, Fig. 3) and *Chascanopsetta lugubris* (Pl. II, Fig. 4). Concerning the vascularization and the embryonic fissure, there are also diverse instances of vitreal vessels; which, the author believes, may be conveniently separated into two subtypes i.e. vitreal vessels over the retina, with and without the embryonic fissure.

a. Vitreal vessels over the retina with the embryonic fissure.

An example of this subtype is seen in *Cho. azurio* (Fig. 5–A and Pl. II, Fig. 3) where the embryonic fissure still remains with its entire length, and the above mentioned main vessel feeding the lens muscle positively is present. In *Cho. azurio*, *Cha. lugubris*, *Petroschmidtia toyamensis* (Fig. 5–B) and *Gasterosteus aculeatus microcephalus*, the main vessel is distally supported by a membrane. Usually, as seen in *Cho. azurio* (Fig. 5–A) and *P. toyamensis* (Fig. 5–B), all the branches over the retina, after congregating into a few thicker vessels, go distally into the embryonic fissure, while in *Engraulis japonica* (Fig. 5–C) and *Arctoscopus japonicus*, the peripheral parts of the vascularization form an annular- or ring-vessel along ora terminalis which leaves the inside of the eye at the base of the lens muscle, after first having received all the other branches.

In *Halichoeres poecilopterus*, a Labrid, ophthalmoscopically the blood flow was confirmed also to have proximal→distal and main vessel→branches direction, which is in discord with VIRCHOW's description[1] that in *Tautogolabrus adopersus*, a European Labrid,

* Only BEER[7] noticed the branches on the retina in *Scorpaena* examined ophthalmoscopically.

the entrance of the vitreal vessels is not situated at the optic disc, but, in the same manner as the exit, within the embryonic fissure.

This subtype is definitely understood to have the branches of the main vessel both densely and extensively developed over the retina and was found in the species referred to as E–a in Table 1.

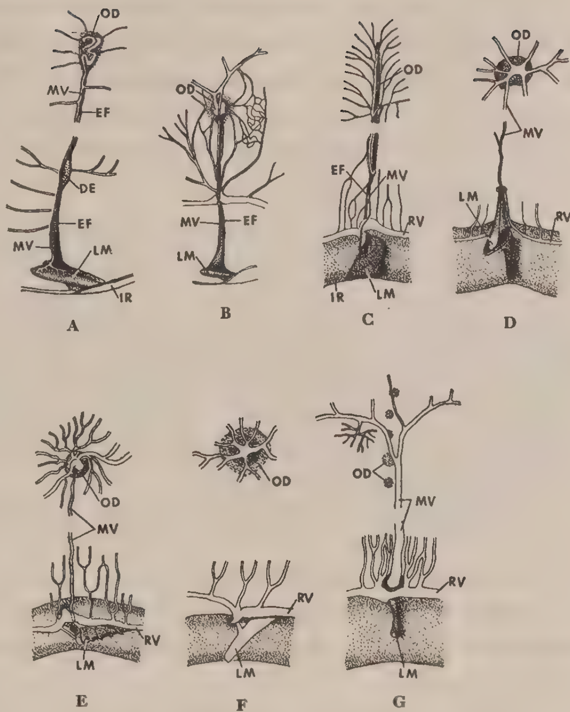


Fig. 5. Examples of vitreal vessels. Vascularization near the optic disc and lens muscle are exclusively shown (in the front view except that vascularization near the lens muscle in C, D, E, F and G which is viewed from the inside of the eye). A, *Choerodon azurio*; B, *Petroschmidtia toyamensis*; C, *Engraulis japonica*; D, *Carassius auratus*; E, *Acanthogobius flavimanus*; F, *Trachyrhamphus serratus*; G, *Plotosus anguillaris*. RV, annular vessel (ring vessel). Other lettering as before.

b. Vitreal vessels over the retina without the embryonic fissure.

Examples of this subtype are shown in *Carassius auratus* (Fig. 5–D), *Acanthogobius flavimanus* (Fig. 5–E) and *Trachyrhamphus serratus* (Fig. 5–F), where the embryonic fissure is either wholly lacking or, even if present, very rudimentary and where the annular vessel regularly exists, receiving the thinner branches resulting from the dichotomous division of the hyaloid artery.

In *C. auratus*, *A. flavimanus* and *Channa argus*, one of the branches runs from the optic disc to the lens muscle, thus corresponding to the above said main vessel, while it is definitely absent in *T. serratus*, as Fig. 5–F shows.

In *C. auratus* and *Ch. argus*, the embryonic fissure is present only far distally and is connected by a membrane to the underdeveloped lens muscle.

In *Plotosus anguillaris* (Fig. 5–G) and *Misgurnus anguillicaudatus*, the artery does not appear at the optic disc as it does in their related species, but enters the inside of the eye at the ventral ora, at first to run dorsally and then to divide dichotomously, resulting in a fine network over the retina and a peripheral annular vessel. This exceptional mode of vascularization seems to be caused by the fact that the optic disc is not single but multiple and consists of several dotted spots presumably lined along the healed embryonic fissure.

In *Periophthalmus cantonensis*, ophthalmoscopically the blood flow was confirmed to have optic disc→ora terminalis direction (practised in the air).

Further it may be reasonably presumed that this subtype of vitreal vessels also may be closely related to the branches of the main vessel.

This subtype was found in the species referred to as E–b in Table 1.

F. Retinal vessels.

This is a well known type and common in Anguillids or eel like fishes. This type is, as seen in *Astroconger myriaster* (Pl. II, Fig. 5), characterized by two points: one is that vascularization not only lies over the surface of the retina, but also within the retina, capillaries being sent to both the inner and the outer nuclear layer of the retina; the other is that in the vascularization the draining vein as well as the artery uses the optic disc as the portal. In *Anago anago* and *Ophisurus macrorhynchus*, for example, the vascularization within the retina, if present, is much less, thus suggesting its various degrees among species.

This type was found in the species referred to as F in Table 1.

G. Other unusual instances.

There are some other instances which do not belong to any of the above mentioned types and where the embryonic fissure is either distally present or wholly lacking. They are referred to as G in Table 1.

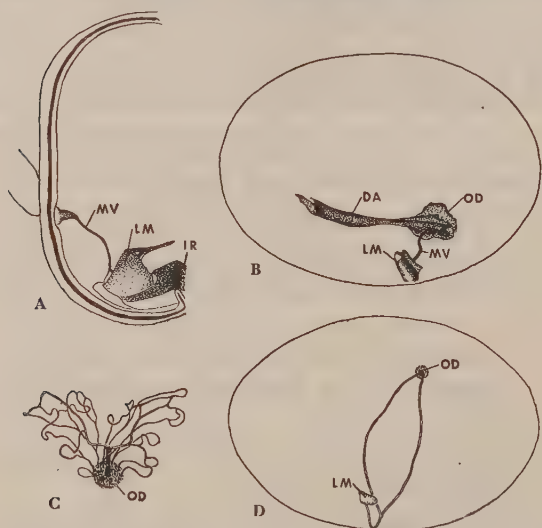


Fig. 6. Examples of unusual instances. A, *Exocoetus volitans* (in the vertical section); B, *Ablennes hians* (in the front view); C, *Mugil cephalus* (in the front view); D, *Chaunax fimbriatus* (in the front view). Lettering as before.

In *Exocoetus volitans* (Fig. 6–A) of Exocoetidae and *Hemiramphus sajori* of Hemiramphidae, there is a strong, well pigmented lens muscle attached to a part of the ventral retina which seems to be the embryonic fissure remaining distally. A well pigmented vessel, which seems to be equivalent to the main vessel does not run on the surface of the retina, but runs through the vitreous cavity to the lens muscle.

In *Ablennes hians* (Fig. 6–B, and Pl. II, Fig. 6) of Belonidae, in addition to a situation similar to that in *E. volitans*, the part identical with "Dorsaler Anhang" is so developed that a large, horizontal well pigmented band exists, partitioning the vitreous cavity dorso-

ventrally, though incompletely.

In *Leiognathus rivulatus* of Leiognathidae, the embryonic fissure is entirely absent and only one vessel runs along the retina from the optic disc to the lens muscle. The same is seen in *Lophius litulon* of Lophiidae, *Antennarius tridens* of Antennariidae and *Malthopsis lutea* of Oncocephalidae, while in *Chaunax fimbriatus* (Fig. 6–D) of Chaunacidae, near the optic disc, the main vessel is divided into several branches which congregate distally to a single vessel feeding the lens muscle. In *Neoscopelus microchir* of Myctophidae and *Polyipnus asteroides* of Sternoptychidae, similar branches are developed enough to form a simple network.

In *Mugil cephalus* (Fig. 6–C) of Mugilidae, a tangle of coarse vascularization has grown into the vitreous cavity, while in *Bregmaceros japonicus* of Bregmacerotidae and probably *Ateleopus purpureus* of Ateleopidae, a vascular net covers the retina. Further, in *Crystallias matsushimae* of Liparidae, both the retina and the vitreous cavity are vascularized. Common to these species, possibly including *Erisphex potti* of Congiopodidae with much less vascularization on the retina, the exit as well as the entrance of the vessels is by way of the optic disc, which resembles the situation in Anguillids.

In *Fistularia villosa* of Fistulariidae, *Lotella phycis* of Moridae, *Ventrifossa misakia* of Coryphaenoididae and perhaps in *Oryzias latipes* of Cyprinodontidae, no vessel was observed and the fundus is completely free from any of the structures above mentioned*.

Discussion and Conclusion

Virchow,[2] having defined the falciform process as a plate of connective tissue projecting along the embryonic fissure, distinguished among many variants of the process four "Grundformen"; 1) the very low falciform process as seen in most Acanthopterygii, 2) the distally high falciform process as seen in Salmonidae, *Esox* and herring, 3) the proximally high falciform process as seen in *Thynnus* and *Auxis*, 4) the very short and distally present falciform process as seen in Cyprinidae and *Hippocampus*.

This method of distinction, though it is the only one that has ever been repeatedly cited in the literatures[5),6),11)], seems to be far from satisfactory, because it cannot successfully depict the relationship between the various instances of the falciform process which are actually encountered. Further, an example of "Grundform" 4), as shown in *Carassius auratus* (Fig. 5–D), a Cyprinid, is really just a small membrane connecting the lens muscle with the distally remaining embryonic fissure and it surely cannot be regarded as an instance of the restricted falciform process from the standpoint of main vessel.

As the main part of the falciform process is that vascularization from the hyaloid artery which has developed into the vitreous cavity along the embryonic fissure, the

* A histological study, however, revealed some vascularization on the optic disc in *V. misakia*.

extent of vascularization primarily should be taken into account in classifying the falciform process. Herein, based upon this idea, various instances of it have been roughly classified into the low (A and D), higher (B) and very high (C) types.

According to FRANZ,[5] the instances in which the length of the falciform process is reduced by the partial healing of the embryonic fissure include *Gasterosteus maritimus*, *Crenilabrus*, Syngnathidae and *Hippocampus*, Cyprinidae, *Gobius minutus*, *Gadus carbonarius* etc. In almost all the species, however, which are closely related to the above ones, respectively, for example, *Gasterosteus aculeatus*, *Choerodon azurio*, *Trachyrhamphus serratus*, *Acanthogobius flavimanus*, *Theragra chalcogramma*, as already stated, no partial healing can be confirmed, but in fact, the embryonic fissure is either completely present or totally lacking. Even in this last case, the vessel feeding the lens muscle, therefore corresponding to the main vessel of the falciform process, does not suffer any reduction in its length. Neither does the possible partial healing, which may be considered to have occurred from the presence of the distally remaining embryonic fissure in Cyprinidae, Hemiramphidae, Exocoetidae and Channidae, restrict the main vessel distally. The healing seems simply to prevent the main vessel from communicating with, presumably, the choroid.

The falciform process and some instances of the vitreal vessels i.e. those of the E-a type are surely related by such branches running on the retina as seen in the D type, not by the distally present falciform processes which have not, so far, been met with. In other words, in the falciform process the branches of the main vessel are grown into the vitreous cavity, while in the vitreal vessels the same branches are developed densely over the retina.

In some other instances of the vitreal vessels i.e. those included in the E-b type, not only complete healing of the embryonic fissure but also indistinguishability of the main vessel are shown, thus suggesting probable degeneration of the latter.

The F type, in which the draining vein also uses the optic disc as the portal, at present, cannot be definitely related to any of the other types. It may have something to do with the unusual instances shown in *Mugil cephalus* etc.

In *Erisphex potti* of Congiopodidae, the embryonic fissure is absent, while other members of the same family belong to the D type. In *Lotella phycis* of Moridae, both the embryonic fissure and the vascularization are lacking, while *Theragra chalcogramma*, a Gadid and related species, belongs to the A type. In *Neoscopelus* spp. of Myctophidae, a simple unusual vascular net is present on the retina, while other members of the same family belong to the true E-b type; therefore, the complete healing of the embryonic fissure and the degeneration of the vascularization are assumed to take place rather easily from the phylogenetical viewpoint. Thus the unusual instances may be related to either the A, D or E types.

To be conclusive, the interrelationship among all the mentioned types including unusual instances can be tentatively summarized in Fig. 7.

Other unusual instances.

C type, the very high falciform process.
|
B type, the higher falciform process.
|
——A type, the low falciform process.
|
——D type, the low falciform process with branches on the retina.
|
——E-a type, vitreal vessels over the retina with the embryonic fissure.
|
——E-b type, vitreal vessels over the retina without the embryonic fissure.
?
\
F type, retinal vessels.

Fig. 7. Interrelationship among various types of the falciform process, vitreal vessels and other related structures.

Apart from the unusual instances, it should be pointed out that in a family appear either one type or two adjoining types i.e. (A, B), (B, C), (A, D), (D, E–a) or at most three adjoining types (A, B, D) in Fig. 7, but never do separated types, as Table 1 shows, and also, that such adjoining types as (A, B), (B, C) and (D, E-a) have by no means a line of demarcation between them, respectively

In order to establish the interrelationship decisively, however, it is necessary to study more particularly the vascularization inside the eye not only in the adult stage but also in the embryonic stages, and on these stages only few studies[11),12)] have ever been attempted.

Further, it must be mentioned that such conspicuous structures in the vitreous cavity as the very high falciform process and the huge "Dorsaler Anhang" are found in the oceanic agile fishes of families such as Sphyraenidae, Scombridae, Histiophoridae, Coryphaenidae and Belonidae, with the exception of those of Priacanthidae which are rather sluggish in nature. On the other hand, such vascularization over the retina as the most developed vitreal vessels and retinal vessels are, generally speaking, found in the lazy fishes which are living either in turbid standing water or on the bottom (Table 1). This fact seems to propose such a functional differentiation in these structures as suggested by TAMURA,[12)] in addition to WALLS' description[6)] assuming that all these structures serve primarily for the nutrition of the inner layer of the retina.

The author wishes to express his obligation to Professor Dr. T. TAMURA for the very helpful suggestions and criticisms that he gave during this investigation. He is also greatly indepted to Emeritus Professor Dr. I. AMEMIYA for his encouragement and the valuable time he spent in reading the original manuscript. Further, he wishes to express his gratitude to Messrs. T. WATANABE, K. HUTAMURA and H. KATO for their cooperation in collecting the material, and to both Sinmaiko- and Takesima-Aquarium for their kindness in placing at his diposal live fish for ophthalmoscopy and injection.

Summary

1) The falciform process, vitreal vessels and other related structures of the teleost eye were observed under a binocular microscope, and in some cases these observations were accompanied by the indirect methode of ophthalmoscopy, on 266 species belonging 128 families; the interrelationship among these structures was discussed from the standpoint of vascularization.

2) The falciform process consists chiefly of the vascularization springing from the main vessel of the hyaloid artery into the vitreous cavity rather than the outgrowth of choroidal connective tissue through the persisting embryonic fissure. The various instances of the falciform process have been divided into four successive types on the basis of vascularization.

3) The falciform process and some instances of vitreal vessels are related by a type of falciform process with branches on the retina. This means that vitreal vessels in general may have the branches from the main vessel developed extensively over the retina.

4) The interrelationship between these structures, including the retinal vessels and other unusual instances, has been tentatively summarized in Fig. 7, the possibilities of the healing of the embryonic fissure and the degeneration of vascularization having been assumed.

5) Further, a marked correlation between the extreme types of these structures and the swimming habits of the fish was mentioned.

References

1) VIRCHOW, H.: Habilitationsschrift, Berlin, (1882).
2) ———: Anat. Hefte, 2te Abt., **10**, 720–844 (1901).
3) FRANZ, V.: Arch. f. vergl. Ophthalmol., **1**, 427–443 (1910).
4) ———: Sehorgan. In Lehrbuch der vergleichenden mikroskopischen Anatomie der Wirbeltiere (ed. OPPEL), Teil 7, Jena, Gustav Fischer, (1913).
5) ———: Vergleichende Anatomie des Wirbeltierauges. In Handbuch der vergleichenden Anatomie der Wirbeltiere (ed. BOLK, GÖPPERT, KALLIUS, LUBSCH), Bd, 2, III Höhere Sinnesorgane, Berlin and Vienna, Urban und Schwarzenberg, (1934).
6) WALLS, G. L.: The Vertebrate Eye, Michigan, U.S.A., Cranbrook Institute of Science, (1942).
7) BEER, T.: Pflüg. Arch. ges. Physiol., **58**, 523–650 (1894).
8) KARSTEN, H.: Jena Zeits. f. Naturwiss., **59**, 115–154 (1923).
9) MICHAELSON, J. C.: Retinal Circulation in Man and Animals, Illinois, U.S.A., Thomas, C. C., (1954).
10) PRINCE, J. H.: Comparative Anatomy of the Eye, Illinois, U.S.A., Thomas, C.C., (1956).
11) SZILY, A. V.: Arch. f. Ophthalmol., **109**, 3–105 (1922).
12) TAMURA, T.: Gyo-rui no Sikaku ni tuite (On the Visual Sense in Fish), Suisan-gaku Syusei, 721–750 (1957).
13) TRETJAKOFF, D.: Zeits. f. wiss. Zool., **127**, 645–665 (1926).
14) MATSUBARA, K.: Fish Morphology and Hierarchy, Tokyo, Japan, Isizaki Syoten, (1955).
15) VON KITTLITZ, A. F.: Anat. Hefte, Abteil. 1, **32**, 279–305 (1907).

Explanation of Plates I-II

Each lettering is the same as that in the text figures.

Plate I

Fig. 1. A higher falciform process shown in the vertical section of the eye of *Scomber tapeinocephalus*.

Fig. 2. A higher falciform process shown in the vertical section of the eye of *Seriola quinqueradiata*. India ink was injected.

Fig. 3. A higher falciform process shown in the vertical section of the eye of *Lateolabrax japonicus*. India ink was injected.

Fig. 4. A higher membranous falciform process shown in the vertical section of the eye of *Zenopsis nebulosa*.

Fig. 5. A very high falciform process shown in the vertical section of the eye of *Priacanthus boops*.

Fig. 6. A very high falciform process shown in the vertical section of the eye of *Scomberomorus sinensis*.

Fig. 7. A very high membranous falciform process shown in the vertical section of the eye of *Makaira mitsukurii*.

Fig. 8. A very high membranous falciform process shown in the vertical section of the eye of *Coryphaena hippurus*.

Pl te II

Fig. 1. A low falciform process with branches on the retina shown in the front view of the eye of *Sebastes inermis*. India ink was injected.

Fig. 2. A low falciform process with branches on the retina shown in the front view of the eye of *Epinephelus fario*. India ink was injected.

Fig. 3. Vitreal vessels shown in the front view of the eye of *Choerodon azurio*. India ink was injected.

Fig. 4. Vitreal vessels shown in the front view of the eye of *Chascanopsetta lugubris*. India ink was injected.

Fig. 5. Retinal vessels shown in the separated retina of *Astroconger myriaster*. India ink was injected.

Fig. 6. An unusual instance shown in the front view of the eye of *Ablennes hians*.

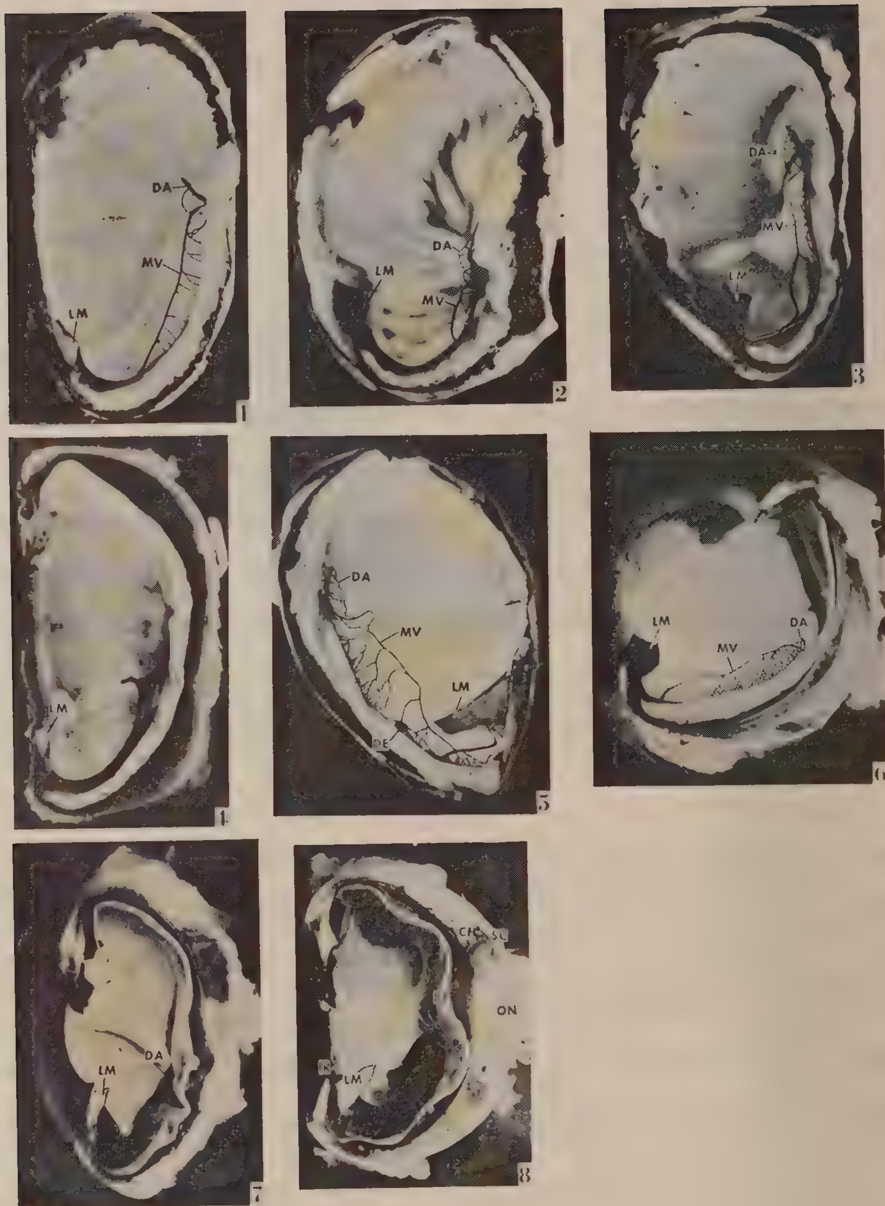

DA
MV
LM
1
DA
LM
MV
2
DA
MV
LM
3
LM
4
DA
MV
LM
5
LM
MV
DA
6
DA
LM
7
CH
SC
ON
LM
8

Plate I

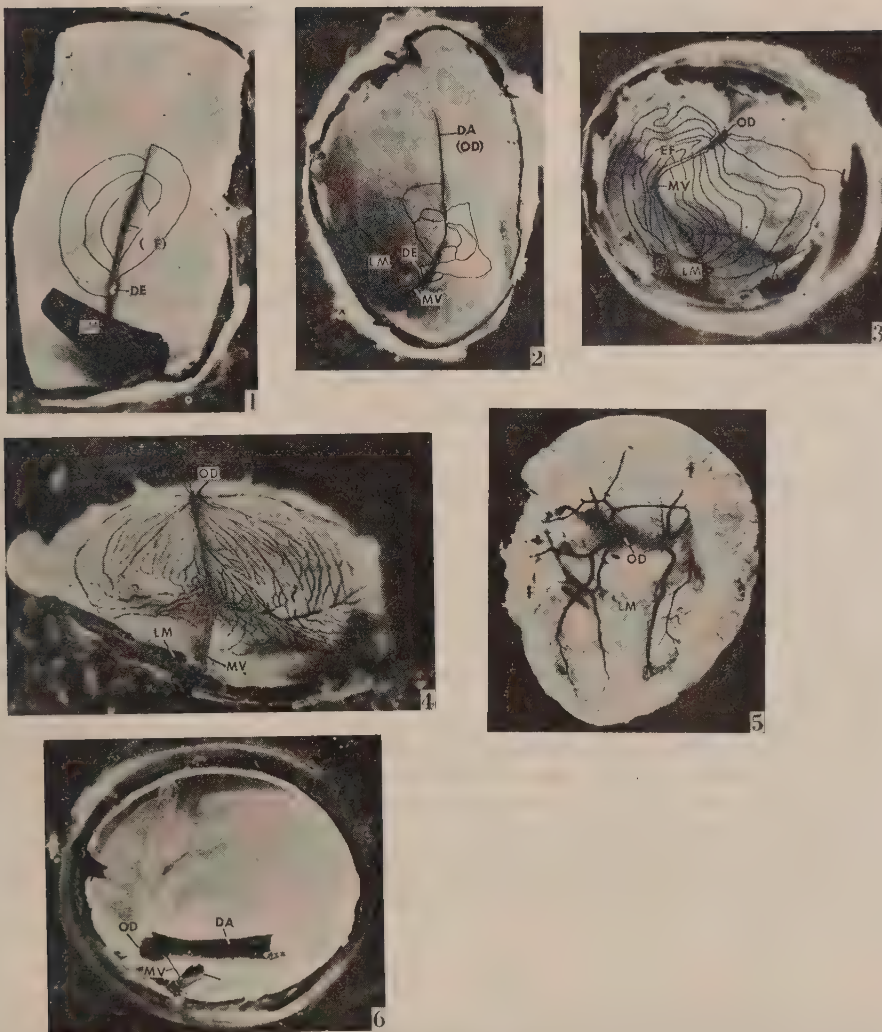


Plate II

硬骨魚眼の鎌状突起並びにその他の関連構造について—II.

血管の走行

羽 生 功

(1959 年 8 月 31 日受理)

ON THE FALCIFORM PROCESS, VITREAL VESSELS AND OTHER RELATED STRUCTURES OF THE TELEOST EYE—II. VASCULARIZATION

Isao HANYU*

In the previous paper[5], the author discussed the interrelationship of the falciform process, vitreal vessels and other related structures of the teleost eye from the standpoint of the vascularization both in the vitreous cavity and on the retina. Further, in order to study the vascularization from the hyaloid artery, especially its communication with the choroid, he adopted a method of Neoprene latex injection and obtained following results.

1) Generally, the main vessel of the hyaloid artery appears at the optic disc and then runs ventrally along the embryonic fissure to the lens muscle or campanula Halleri, thus feeding the latter. The vein from the lens muscle and that from the iris congregate into the ventral choroidal vein.

2) The branches from the main vessel, either in the vitreous cavity or on the retina, go distally into the embryonic fissure, when it is present, and communicate with the choriocapillaris, ventral choroidal vein and other choroidal vessels, never rejoining the main vessel. When the embryonic fissure is lacking, the branches over the retina are received by the peripheral annular vessel, which passes into the ventral choroidal vein at the ventral ora.

3) The presence of the lentiform body, a plexus interpolated in the hyaloid artery, is not regular among species. The lentiform body, when present, communicates with the choroid in some species.

緒 言

硬骨魚眼の鎌状突起 (falciform process) や vitreal vessels 等における血管分布は，二三の場合に関しては VIRCHOW[1], FRANZ[2], KARSTEN[3], BARNETT[4]等の記載に詳しいが，血管分布の点からこれら構造の移行関係が論ぜられたことはなかつた。著者は先きに多数の魚種につき，網膜面および硝子体腔内の血管分布を観察した結果，鎌状突起とは hyaloid artery の分枝が embryonic fissure に沿い，硝子体腔内に発達した場合であり，同じ分枝が網膜面に送られる移行型を介して vitreal vessels に結び付くことを指摘した[5]。

続いて hyaloid artery およびその分枝の走行，殊に脈絡膜の血管との交通をやや詳しく検討したので，その結果を報告する。

材料および方法

血管注入剤としては，実施および観察に便利な Neoprene latex[6] を用いた。生魚の尾動脈を切つて放血

---

* 名古屋大学農学部 (Fac. Agr., Nagoya Univ.).

Table 1. The species used in this study.

Family	Species	
Cyprinidae	コイ	*Cyprinus carpio*
Plotosidae	ゴンズイ	*Plotosus anguillaris*
Serranidae	スズキ	*Lateolabrax japonicus*
	ノミノクチ	*Epinephelus fario*
Girellidae	メジナ	*Girella punctata*
Sparidae	マダイ	*Chrysophrys major*
Pomadasyidae	コショウダイ	*Plectorhynchus cinctus*
Gobiidae	マハゼ	*Acanthogobius flavimanus*
Tetraodontidae	ヒガンフグ	*Fugu pardalis*
Scorpaenidae	タケノコメバル	*Sebastes oblongus*
	カサゴ	*Sebastiscus marmoratus*
Hexagrammidae	アイナメ	*Hexagrammos otakii*
Pleuronectidae	イシガレイ	*Kareius bicoloratus*

した後，他の諸動脈を傷つけぬよう注意して露出させた背大動脈より 2～3 倍に稀釈した Neoprene を普通の注射器具で注入した。ついで魚体を一旦フォルマリンで固定した後に眼球を摘出して，これを 2 倍に稀釈した濃塩酸中に数日放置し，組織が軽度に浸蝕されるのを待つて双眼解剖顕微鏡下で観察した。

この注入法では，Neoprene は魚眼内血管の静脈部にはあまり到達せず，したがつて主として動脈部のみの観察に止まつたが，hyaloid artery と交通する脈絡膜，レンズ筋 (campanula Halleri)，虹彩等の静脈部にはしばしば良く流入した。

注入に成功し，観察しえた魚種は Table 1 の通りである。

結　　果

観察結果は，前報[5)] に記載したこれら構造の諸型の順に述べる。

A type　低い鎌状突起

ヒガンフグ (Fig. 1–A および Plate I, Figs. 1～2)：ヒガンフグの低く膜状の鎌状突起の場合を模式的に Fig. 1–A に示す。hyaloid artery は視神経の腹側に接して眼内に入り，視神経乳頭の直下において網膜を貫き硝子体腔に現われる。その主管 (main vessel) は小枝を embryonic fissure 内に分ちながら，これに沿つて下方に走り，レンズ筋に至り，ここに分布する外，上方乳頭上にも分枝を送つて "Dorsaler Anhang" を形成する。これらの分枝はいずれも再び主管に合一することはなく，末端を辿れば脈絡膜の choriocapillaris (脈絡膜毛細管層) と直接にか，またはこれと結合する細小血管と交通する。なおこの交通は "Dreiecke" の附近において特に明らかに認められた。他方レンズ筋より出る静脈は虹彩からの静脈と合一して太い ventral choroidal vein となり，脈絡膜の最外側を走つて視神経に達し，これに沿い眼外に出る。また前記の細小血管はこの ventral choroidal vein および choroidal gland* の静脈部とも連絡がある (Plate I, Figs. 1～2)。

マダイ：ヒガンフグの場合に似るが，1) hyaloid artery も鎌状突起に達する前に一旦細分枝して lentiform body と称する plexus を形成した後再び一本に合一する，2) 主管からの分枝は一層単純である，3) ventral choroidal vein と直接 choroidal gland へ入る血管との結合が不明である等の差異がある。

B type　やや高い鎌状突起

コショウダイ (Fig. 1–B および Plate I, Fig. 3)：hyaloid artery の主管が硝子体腔を初めはやや高く走り，かつ，これから embryonic fissure へ向う小枝はさらに分岐を重ねて垣根状の粗網を形成するが，その他の lentiform body, ventral choroidal vein の存在，脈絡膜との交通等の諸点は A type 殊にマダイの場合と全く同様である。

スズキ：コショウダイの場合に酷似する。

D type　網膜上に迂回枝のある低い鎌状突起

ノミノクチ (Fig. 1–C)：著るしい特徴は hyaloid artery の分枝が鎌状突起内のみでなく，網膜の表面

* 魚眼に特有の plexus で，動脈部は眼球の入る他の動脈 ophthalmic artery の分枝に依り形成される。ALLEN[7)] および BARNETT[4)] の詳述がある。



Fig. 1. A comparison of vascularization between various types of falciform process and vitreal vessels. Only the vascularization is diagrammatically shown; iris, lens and retina being omitted. In E and F, branches over the fundus are also omitted. A, a low falciform process in *Fugu pardalis*; B, a higher falciform process in *Plectorhynchus cinctus*; C, a low falciform process with branches on the retina in *Epinephelus fario*; D, vitreal vessels over the retina with the embryonic fissure in *Hexagrammos otakii*; E, vitreal vessels over the retina without the embryonic fissure in *Acanthogobius flavimanus*; F, peculiar vitreal vessels over the retina without the embryonic fissure in *Plotosus anguillaris*.

CG, choroidal gland; CP, choriocapillaris; CV, choroid vessels; DA, "Dorsaler Anhang": DE, "Dreiecke"; HA, hyaloid artery; IR, iris; LB, lentiform body; LM, lens muscle; MV, main vessel; ON, optic nerve; RV, annular vessel; VCV, ventral choroidal vein; VLM, vein from lens muscle.

にも送られる点である。これらの分枝は，若干分岐して embryonic fissure の左右の小面積を蔽つた後，小数条の血管に集まり "Dreiecke" 附近の embryonic fissure を通じて矢張り脈絡膜と交通する。ventral choroidal vein, lentiform body の存在は上述の魚種と同様である。

メジナ： ノミノクチの場合に良く似る。

カサゴ (Plate I, Figs. 4～5) およびタケノコメバル： 主管の分枝はほとんど網膜面のみに送られ，その末端は choriocapillaris とも明らかに交通する (Plate I, Fig. 5) 外， ventral choroidal vein に直接入るのが特徴的である。またカサゴでは lentiform body から choroidal gland や choriocapillaris へ向う血管も認められた。

E-a type embryonic fissure のある網膜上の vitreal vessels

アイナメ (Fig. 1-D)： 網膜上に送られる分枝がいわゆる vitreal vessels と呼ばれうる程度に発達し，網膜の広い面積を蔽う。しかし脈絡膜との交通等の点ではカサゴの場合と共通である。

イシガレイ： アイナメの場合に似るが lentiform body を欠く。

E-b type embryonic fissure のない網膜上の vitreal vessels

マハゼ (Fig. 1-E)： 前報[5]にも述べた通り hyaloid artery は視神経乳頭に現われると直ちに分岐を重ねて網膜全面を蔽い，分枝の末端は ora terminalis の附近で環状の annular vessel に入る。上述の魚種と異なり，embryonic fissure を欠くために，分枝と脈絡膜との直接の交通はなく，annular vessel がレンズ筋の基部において ventral choroidal vein と連絡する。なお分枝の一つは例外的にレンズ筋に入り，したがつて上述の主管に相当する。またレンズ筋の vein と見られる一小血管もあり， annular vessel に入る。lentiform body はなく，代りに hyaloid artery は choroidal gland の両肢の間を蛇行する (Fig. 1-E)。本種では Neoprene が choriocapillaris にも良く入り，これと choroidal gland, hyaloid artery の蛇行部，ventral choroidal vein 等との連絡も認められた。

コイ： マハゼの場合に似るが lentiform body はある。

ゴンズイ (Fig. 1-F および Plate I, Fig. 6)： 前報[5]に述べたごとく視神経乳頭が embryonic fissure の癒合線上に飛石状に位置するため，hyaloid artery は眼底において網膜を貫くのでなく，脈絡膜の外側を通つて ventral ora に達し annular vessel の直ぐ内側の一孔より眼内に入る。ついで反転して網膜上を上方に向い，やがて分岐して vitreal vessels を形成する (Plate I, Fig. 6)。 annular vessel と ventral choroidal vein との連絡はマハゼの場合と同様である。退化的なレンズ筋に達する hyaloid artery の分枝は明らかでないが，レンズ筋より annular vessel に入る vein は認められる。lentiform body も choroidal gland もない。

論　　議

FRANZ[2] は鎌状突起内の血管が末端では一本に集まりレンズ筋に入ると述べているが，著者の扱つた魚種においてはレンズ筋に入るのは hyaloid artery の主管のみであり，その分枝は "Dorsaler Anhang" をも含めてすべて choriocapillaris 等の脈絡膜の諸血管と交通することが判明した。他の魚種の鎌状突起についても同様であると思われる[5]。さらに鎌状突起内の分枝に限らず， embryonic fissure のある網膜面を走る迂回枝 (D, E-a types) も同様に脈絡膜と交通する。

一方 embryonic fissure を欠く場合 (E-b type) では hyaloid artery の分枝は一旦周縁の annular vessel に集まり，レンズ筋の基部に近く ventral choroidal vein と合一する。 hyaloid artery の主管は embryonic fissure のない場合にもしばしば明確に存在する。結局 "embryonic fissure の癒合のために"* hyaloid artery の主管が，したがつて "鎌状突起が distal に局限される"* ことはなく，単に主管からの分枝と脈絡膜との交通が失われるに過ぎない。

* VIRCHOW[8], FRANZ[9], WALLS[10] 等の記載に依る。

主管は，萎縮したレンズ筋をもつゴンズイでは存在しないらしく，レンズ筋とともに退化したと見られる。レンズ筋より出る静脈はすべて ventral choroidal vein に合一する。また ventral choroidal vein と choriocapillaris との連絡は vitreal vessels の場合には特に明らかに認められた。

BARNETT[4] に依れば，ニジマスでは lentiform body が鎌状突起へ一枝を送る外，choriocapillaris とも交通する。上述の魚種の場合この交通は確認されなかつたが，カサゴだけには lentiform body と choriocapillaris との連絡が認められた。lentiform body 自身の有無も魚種により区々である。

以上，比較的普通に見られる types について論じた。なお retinal vessels については VIRCHOW[8] や MICHAELSON[11]の記載があるが，その他の偏倚型[5]における血管分布についても今後の検討が必要である。

要　　約

1. 硬骨魚眼の hyaloid artery およびその分枝の走行と脈絡膜との連絡を 11 科 13 種につき，Neoprene latex 注入に依つて調べた。

2. hyaloid artery は，視神経乳頭において網膜を貫き，その主管はレンズ筋に直行して，そこに分布するのを原則とする。レンズ筋からの静脈は虹彩からのそれと合一して ventral choroidal vein となる。

3. 主管の分枝はすべて再び主管に合一することはなく，embryonic fissure が存在する場合には，これを通つて直接 choriocapillaris，ventral choroidal vein，その他の脈絡膜血管と交通するが，embryonic fissure がない場合には一旦周縁の annular vessel に集まつてから choriocapillaris とも連絡のある ventral choroidal vein に入る。

4. hyaloid artery の途中に介在する lentiform body の有無およびこれと脈絡膜との連絡は魚種に依り区々である。

終りに，御指導を賜わつた川村保教授，Neoprene 注入法につき御教示を頂いた西田隆雄氏，御便宜を与えられた蒲郡市竹島水族館の各位に厚く御礼申上げる。

文　　献

1) VIRCHOW, H.: Habilitationsschrift, Berlin, (1882).
2) FRANZ, V.: Arch. f. vergl. Ophthalmol., **1**, 427～443 (1910).
3) KARSTEN, H.: Jena Zeits. f. Naturwiss., **59**, 115～154 (1923).
4) BARNETT, C. H.: J. of Anat. **85**, 113～119 (1951).
5) 羽生　功: 本誌，投稿中.
6) 高畑倉彦: 高分子，**4**, 63～66 (1955).
7) ALLEN, W. F.: Anat. Rec., **103**, 205～211 (1949).
8) VIRCHOW, H.: Anat. Hefte, 2 te Abt., **10**, 720～844 (1901).
9) FRANZ, V.: Vergleichende Anatomie der Wirbeltieraugen. In Handbuch der vergleichenden Anatomie der Wirbeltiere (ed. BOLK, GÖPPERT, KALLIUS, LUBOSCH) Bd. 2, III Höhere Sinnesorgane, Berlin und Vienna, Urban und Schwarzenberg, (1934).
10) WALLS, G. L.: The Vertebrate Eye, Michigan, U.S.A., Cranbrook Institute of Science, (1942).
11) MICHAELSON, J. C.: Retinal Circulation in Man and Animals, Illinois, U.S.A., Thomas, C. C., (1954).

Explanation of Plate I.

All the materials were injected with Neoprene latex. Each lettering is the same as that in the text figure.

Fig. 1. The reverse side of the eyeball of *Fugu pardalis*.

Fig. 2. The vertical section of the eyeball of *F. pardalis*. The vascularizations of the falciform process, lens muscle and choroid are shown.

Fig. 3. A higher falciform process in *Plectorhynchus cinctus*.

Fig. 4. The reverse side of the eyeball of *Sebastiscus marmoratus*.

Fig. 5. The vascularization near “Dreiecke” in *S. marmoratus*. Communication of the branches with the choriocapillaris is clearly shown.

Fig. 6. Peculiar vitreal vessels in *Plotosus anguillaris*. Entry of the hyaloid artery at the ventral ora, its branches over the retina, the receiving annular vessel, the vein from the lens muscle are shown.

Plate I.



タモロコの内分泌腺の形態

本 間 義 治

(1959 年 9 月 10 日受理)

HISTO-MORPHOLOGY ON SOME ENDOCRINE GLANDS OF A CYPRINID FISH, *GNATHOPOGON ELONGATUS* (T. et S.), DURING ITS MATURATION PERIOD

Yoshiharu HONMA*

The external features and histological structures of endocrine glands of a Japanese cyprinid fish, *Gnathopogon elongatus* (TEMMINCK et SCHLEGEL), obtained from the fresh-water region of Niigata City were observed and the following results were obtained. The materials used in this study seems to be matured adult fish before spawning season.

1. The pituitary gland is long ovoid in shape, and keeps touch with the area of optic chiasma with the connective tissue bundle. The pituitary of this fish may be regarded as a lepto-cranio-basic type.

The arrangements and histological figures of three glandular lobes of adenohypophysis are closely similar to those of a brackishwater cyprinid fish, *Tribolodon hakonensis taczanowskii*, however these differ from those of carp and Funa (*Carassius*).

2. The discreted thyroid follicles concentrate on the ventral aorta, as which form an anterior and a posterior lobe, but these are not recognized in the other internal organs. The histology of thyroid of this cyprinid fish shows a hypofunctioning figure.

3. The head kidney is apparently independent of the body kidney, and, in general, consists of the lymphoid tissue uniformly. The cardinal vein and its branches in the head kidney are enveloped in the layer of chromaffin cells, and these in turn are surrounded by the mass of acidophilic cells.

4. In the ovary the abundant ovarian eggs in the last stage of yolk globule are found. Therefore, many cyanophiles which are demonstrated in the pars principalis of pituitary seems to be the gonad stimulating cells.

は し が き

さきに筆者は，コイ，フナおよび両種の雑種と，ジュウサンウグイの脳下垂体や甲状腺の外形ならびに組織構造について記載した (本間，'58[6)]，'60[8)])。ところで，欧米でもコイ科魚類の主要内分泌腺は，*Rhodeus amarus* (BRETSCHNEIDER et al, '47[4)]), *Phoxinus phoxinus* (KENT, '59; BARRINGTON et al, '55[3)]) やコイ，金魚 (SCRUGGS, '51[11)]) など比較的少数種の形態が報告されているにすぎない。そこで，日本産淡水魚中で最も種属が多くて優勢な本科魚類のそれに関する知見をさらに増すために，タモロコやバラタナゴについて調べたので，ここでは前種でえた結果を述べたい。

材料および方法

用いたタモロコ *Gnathopogon elongatus* (T. et S.) は，1959 年 5 月に新潟市上所島から採集したもので，その後同年 6 月 3 日に BOUIN 氏液に投ずるまで，研究室内のガラス製水槽に飼育した。液浸標本 2 尾の全長は 61.0 および 42.5 mm，体重 4.2 および 1.4 g，卵巣は左葉 0.50 右葉 0.35 および 0.15 と 0.10 g

* 新潟大学理学部生物学教室 (Dept. Biol., Fac. Sci., Niigata Univ., Niigata, Japan).

であつた。脳下垂体，甲状腺，卵巣は，剔出後 8μ のパラヒン切片となし，DELAFIELD 氏ヘマトキシリン・エオシンの2重染色と，Azan の3重染色によつて鏡検した。また頭腎は，改めて MULLER 氏液に浸し，HEIDENHAIN 氏ヘマトキシリン・ライトグリーンでも染めてクローム親和細胞の検出をはかつた。

観　察　結　果

脳 下 垂 体

タモロコの脳下垂体は，ほぼ 1mm 足らずで長卵形を呈し，背腹軸がわずかに扁平気味で，視束交叉部と白色の結締織の束によつて連なつている。沪斗は広大で，下垂体索が下垂体の背面の頭方寄りに入るので，下垂体型は lepto-cranio-basic である (Fig. 1)。

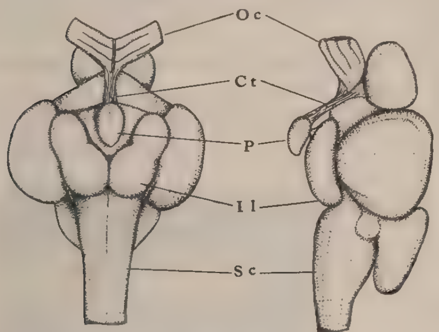


Fig. 1. General morphology of pituitary gland of *Gnathopogon* (× 6). (Left, ventral view; Right, side view) **Oc**. Optic chiasma; **Ct**. Connective tissue bundle; **P**. Pituitary; **Il**. Inferior lobe; **Sc**. Spinal cord.

組織標本によると，下垂体はアニリン青で濃染される膠原繊維性結締組織によつて一様に包まれており，頭方部ではこれが著しく厚さを増し，その中に脈管もみられる。

腺性下垂体の3葉の区別は割合明瞭で，隆起部は最も前方にあり，下垂体索の侵入部より直ちに分枝した神経繊維幹によつて主葉と区切られている。本葉はほぼ小さい角のとれた酸好性細胞より成り，充実した薄層部を形造つている。神経性組織や主葉と接する部分には，同形状の弱塩基好性細胞の小塊が散在している。主葉は下垂体の中央を占める大きな部分で，大型多角状の塩基（青色）好性細胞がきわめて優勢である。この細胞の細胞質は微細顆粒に富み，核は一隅に局在する。これより少し小型の弱酸好性細胞は，円い大きな核をもち，小塊となつて塩基好性細胞の間を埋めているが，典型的なカーミンを摂つた酸好性細胞は認められない。中葉は下垂体の最後方を占め，大体オレンジ好性で，細胞質に乏しい細胞からなる。これらは房状になつた神経膠の部分を囲んで集中している。ところで，神経性下垂体は他の多くの海産硬骨魚のように，中葉で囲まれた纒まつた部分となつておらず，前葉付近は繊維性組織の枝分れであり，中葉付近は上述のように房状の神経膠で，しかもここには粗顆粒が豊富にみられる (Fig. 2)。

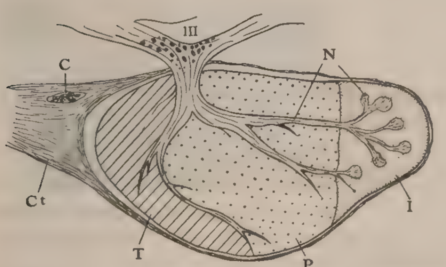


Fig. 2. Diagram of pituitary of *Gnathopogon* in median sagittal section (× 50). C. Capillary; **Ct**. Connective tissue bundle; **T**. Pars tuberalis; **P**. Pars principalis; **I**. Pars intermedia; **N**. Pars nervosa; **III**. Third ventricle.

甲　状　腺

甲状腺は，第1入鰓動脈分岐部の少し前方から，第2入鰓動脈の分岐部にわたる約 2.5mm の間の背域に位置した沪胞群よりなる。これらの沪胞は肉眼でも認められ，ほぼ2要素を形造るように集中している。沪胞はその分布状態が稠密さを欠き，血管壁と結締織の間に介在しているが，第3・第4入鰓動脈付近には分布していない。沪胞形は楕円や卵形のものを主とし，周縁が皺縮したものはなく，その長径は 40～340μ で 100μ 前後のものが多い。コロイドは円滑でエオシンに良く染まり，広い沪胞腔内に充満しており，著しく低い沪胞上皮によつて囲まれている。また上皮細胞は立方状で，高さは 10μ 前後であり，円い大きな核をもつている (Figs. 3 & 4)。

このように，今回観察したタモロコの甲状腺は，機能低下の組織像を示していた。

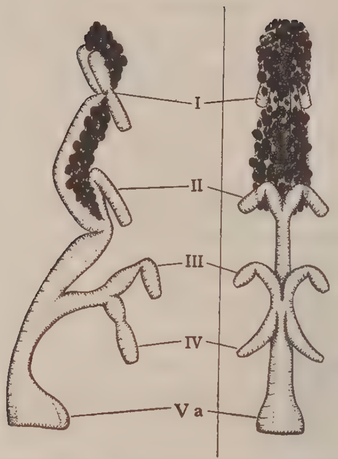


Fig. 3. General morphology of thyroid gland of *Gnathopogon* (× 10).
(Left, side view; Right, dorsal view)
I. First afferent branchial artery; **II**. Second; **III**. Third; **IV**. Fourth; **Va**. Ventral aorta.

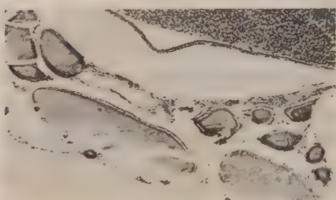


Fig. 4. Photomicrograph of section of thyroid region of *Gnathopogon* (× 70).



Fig. 5. General morphology of kidney of *Gnathopogon* (× 1.5)
Hk. Head kidney; **Cv**. Cardinal vein; **Bk**. Body kidney.

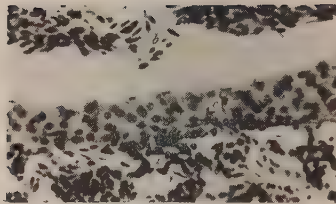


Fig. 6. Photomicrograph of section of head kidney of *Gnathopogon* (× 100).
(DELAFIELD's haematoxylin-eosin stain)
a. lymphoid tissue; **b**. blood cells; **c**. chromaffin cells; **s**. siderophil grannles of chromaffin cell.

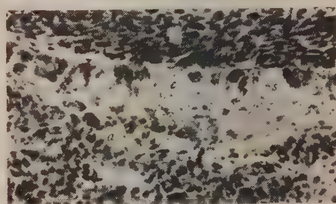


Fig. 7. Same as fig. 6.
(HEIDENHAIN's haematoxylin-light green stain)



Fig. 8. Photomicrograph of section of ovarian eggs of *Gnathopogon* (× 50).

頭　腎

タモロコの頭腎は腹腎（腎本体）との区別が明瞭で，両者の接合部は著しくくびれている。頭腎は左右両要素が後半で合一したものからなり，前半が離れて大いにくびれ長さはそれぞれ 5.0, 3.2; 幅は 2.8, 2.0mm であつた。組織学的には，きわめて脈管性でほとんど完全にリンパ様組織からなるが，腎糸毬体の細尿管が腹腎との接合部にごく僅かみられることもある。粗大な siderophil 顆粒をもつたクローム親和細胞は，主として主静脈またはその分枝静脈壁の周囲に索状に分布し，酸好性細胞中にも散在する。この細胞の核は大きくて細胞の中央に位置せず，また細胞質にも富む。一方酸好性細胞は，クローム親和細胞を取巻いて大量に存在している。この細胞は核が少し小さく，細胞質も乏しいようである (Figs. 5, 6 & 7)。

なお，頭腎および腹腎内には，甲状腺沪胞が全く分布していなかつた。

生殖腺（卵巣）

卵巣には，直径約 700μ の卵黄球末期の卵が最も多いが，なお直径 200～270μ の卵黄胞期や，長径 110μ 程の周辺仁後期の卵もかなり認められる。卵黄球末期の卵では，卵黄胞はすでに卵体の周辺に押しやられ，表層胞としての配列をとり，また卵膜の放散線帯の厚さは非常に増大している (Fig. 8)。

論　　議

日本産魚類の主要内分泌腺については，すでに本間 ('56～'60[6-8]) によつて数十種分の脳下垂体や甲状腺の形態が記載され，その機能の一部も明らかにされた。また頭腎や STANNIUS 氏体については，小栗・日比谷 ('57a, b[10]) および小川 ('59[9]) によつて研究が行われ，一応の見通しが立てられている。

さて今回報告したタモロコの内分泌器と，他の硬骨魚特にコイ科のそれと比べてみると，まず下垂体は外形組織構造ともに既報のウグイ（本間，'58)[6], *Rhodeus* (BRETSCHNEIDER et al, '47[4]), *Phoxinus* (KENT, '59) のそれに良く似ていた。下垂体は膠原繊維性結締組織によつて包まれており，下垂体型は lepto-cranio-basic で，各腺葉は背腹軸方向に区切られていたが，このことについてはウグイで述べた通りで，コイやフナ（本間，'60[8]）と相違している。

甲状腺は，沪胞が第1並びに第2入鰓動脈の分岐部に比較的良く集中しており，他の臓器特に頭腎や脾などへ飛んでいなかつた。この点金魚 (CHAVIN, '56[5]), *Xiphophorus* (BAKER, '58[1], BAKER, et al, '55[2]) ドジョウ（岩井，私信）で報告された沪胞分布の状態と異なるが，供試材料が少ないので今後なお確めてみる必要があろう。

高等動物の副腎に当る器官として魚類に求められたものに，頭腎と STANNIUS 氏体があり，古くから両者の副腎との相同性をめぐつて多くの議論が行われてきた。しかし，現在では組織・発生学的事実や生理的機能面から一応頭腎とする向きが多い。そして，本部に検出されるクローム親和細胞群は上腎組織であり，哺乳類の副腎髄質のそれと相同の細胞と目され，一方酸好性細胞群は間腎組織で，副腎皮質のそれに当ると考えられている。さてタモロコ頭腎のクローム親和細胞と酸好性細胞の分布型は，小栗・日比谷 ('57[10]) の第II型に近い点があり，同じコイ科のコイやフナと少し異なつている。

ところで，今回検したタモロコの卵巣卵が卵黄球形成の後期にあつたことは，これがあと短期間で完熟することを推定できよう。それ故，下垂体主葉に塩基（青色）好性細胞が大量に出現していたにかかわらず，甲状腺像が機能低下の状態にあつたので，この細胞は生殖腺刺戟細胞と考えられる。このことは，すでにウグイ（本間，'58[6]）やアユ (HONMA, '59[7]) で述べた通りで，一般に魚類の甲状腺は性的成熟や産卵に大きな役割を果していないらしい。

本種の甲状腺が，どの時期に活溌になるかについては，今後さらに観察を進め，内分泌腺相互の関係を確めてみたい。

要　　約

タモロコの内分泌腺の外部形態や組織構造を産卵期間近い材料で観察して，つぎのような結果をえた。

1. 脳下垂体は長卵形で，視束交叉と結締織の束で連なり，lepto-cranio-basic である。腺性下垂体3葉の配置や組織像はジュウサンウグイに似ており，コイやフナとは相違していた。

2. 甲状腺沪胞は，腹動脈上に前後両葉を形造るように集中していたが，他の臓器には分布しておらず，機能低下の組織像を示していた。

3. 頭腎は腹腎と良く区別でき，ほぼ一様にリンパ組織からなる。クローム親和細胞は，主静脈やその分枝静脈を囲んでならび，これらはさらに酸好性細胞に取巻かれている。

4. 卵巣には卵黄球末期の卵が多いので，下垂体主葉にみられた多量の青色好性細胞は，生殖腺刺戟細胞と考えられる。

References

1) BAKER, K. F.: *J. Morph.*, **103**, 91 (1958).
2) ――――, O. BERG, A. GORBMAN, R. F. NIGRELLI, and M. GORDON: *Cancer Res.*, **15**, 118 (1955).
3) BARRINGTON, E. J. W., and A. J. MATTY: *Quart. J. Microscop. Sci.*, **96**, 193 (1955).
4) BRETSCHNEIDER, L. H., and J. J. DUYVENÉ DE WIT: Sexual endocrinology of non-mammalian vertebrates. Monog. Prog. Res. Holland, 146 p.
5) CHAVIN, W.: *Zoologica*, N. Y., **41**, 101 (1956).
6) HONMA, Y.: *Jap. J. Ichthyol.*, **7**, 109 (1958).
7) ――――.: *J. Fac. Sci., Niigata Univ.*, Ser. II, **2**, 225 (1959).
8) ――――.: *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **26**, (in press) (1960).
9) OGAWA, M.: *Biol. Sci.* (Tokyo), **11**, 1 (1959).
10) OGURI, M., and T. HIBIYA: *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **22**, 621; **23**, 144 (1957)
11) SCRUGGS, W. M.: *J. Morph.*, **88**, 441 (1951).

THE FLICKER ELECTRORETINOGRAM OF THE CARP EYE*

Tamotsu TAMURA and Isao HANYU**

(Received Sep. 25, 1959)

The function of eyes of fish as well as those of other animals should be considered from four standpoints:—the ability to distinguish the intensities of light (light sense), to discriminate colors (color sense), to resolve the smallest distance (resolving power or visual acuity) and to perceive a moving object (movement perception). It is generally accepted that the last one, the movement perception, can be studied quantitatively by means of the critical fusion frequency of flicker (Cff). According to WALLS (1942, p. 352)[1], "the higher the critical frequency for fusion, the shorter the persistence time (and, sometimes, the latent period)—hence, the less the blur of a moving object and the faster it can move and still be seen well as to its nature, direction, and velocity".

Hitherto, the Cff in fish (see OKA, 1935)[2] has been studied simply by means of either training experiments (BENIUC, 1933)[3] or behavioral observations (WOLF & ZERRAHN-WOLF, 1936 etc.)[4]. While, in the human eye, the Cff was studied by DODT (1951)[5] and HECK (1957)[6] by means of the flicker electroretinogram (ERG). They proved that the ERG critical fusion frequency of flicker in light-adapted human eye coincides with the sensory critical fusion frequency. Therefore, we may be able to assume that the ERG critical fusion frequency in light-adapted fish eye also coincides with the sensory critical fusion frequency of the fish. If this assumption is true, more objective measurements may be expected from the method of flicker ERG than from the training or behavioral experiments.

Although the final aim of our study is to compare the Cff or the ability of movement perception between many kinds of fish whose visual behaviors are different each other, in this paper a description is given of the nature of the carp ERG produced by flicker stimuli or intermittent light, i.e., the flicker ERG of the light-adapted carp eye in relation to the temperature and light intensity is discussed below.

Material and Method

The carps (*Cyprinus carpio*, body length 9-33 cm.) were used as the materials. No essential difference of the experimental results could be seen due to the size of the fish. The fish were kept in an out-door tank exposed to the direct sunshine before they were used. Therefore, the eyes used were always in the state of extreme light-adaptation.

---

* 名古屋大学農学部水産学教室業績

** Fish. Inst., Fac. Agr., Nagoya Univ., Anzyo, Aiti-Pref., Japan

The fish was first lightly anaesthetized by placing it in 1% ethyl urethane solution for 5–10 minutes, and then transferred to 0.3% urethane solution. In this dilute solution, the state of light anaesthetization was maintained for more than 30 minutes, during which the experiments were performed.

The lightly anaesthetized fish was fixed horizontally in the 0.3% urethane solution by a specially made clip (see Fig. 1). The cornea of the experimental eye was made to be out of the solution. As the fish continued breathing, an artifact caused by the opercle movements was sometimes recorded together with the ERG (see Fig. 3A & C). The tip (dia. 0.3 mm.) of one Ag-AgCl electrode was inserted through a small hole made in the center of the cornea. The tip of the other electrode of the same type was inserted behind the eye-bulb. The retinal potentials were led off through a condenser-coupled amplifier to one beam of a double-beam oscilloscope, its other beam being used for recording the stimulus period by means of a photoelectric tube.

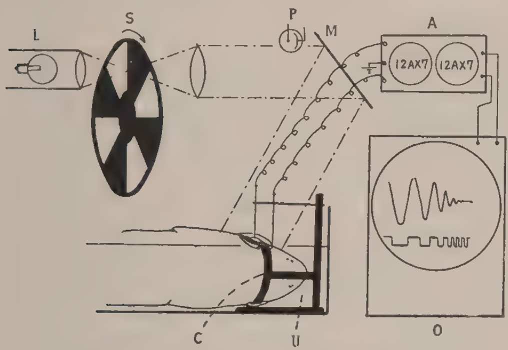


Fig. 1. The method of recording flicker ERG in carp. A, amplifier; C, clip; L, light source; M, mirror; O, oscilloscope; P, photoelectric tube; S, sectored disk; U, 0.3% urethane solution.

The light source was a concentrated filament lamp (6–8 V., ca. 60 W.). In order to obtain intermittent stimulation we used a rotating sectored disk providing equal periods of light and darkness (Fig. 1). The flicker frequency of the light was controlled by changing the rotating rate of the sectored disk. The intensity of the illumination was controlled by filters made of photographic films exposed to light of various degrees. To record the flicker ERG, a continuous recording camera was used, so that the gradual change of the ERG amplitude caused by the gradual change of the stimulus frequency was traced easily.

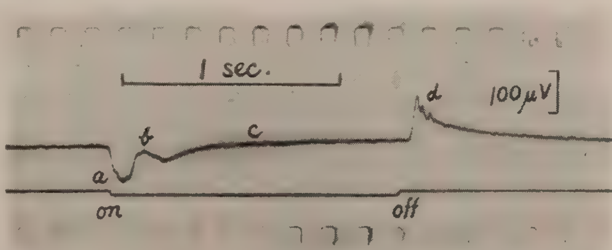


Fig. 2. ERG of light-adapted carp (15 cm) eye. Light intensity 760 lux. Temperature 13°C.

It was very difficult for us to decide definitely the critical fusion frequency of flicker from the record of flicker ERG. The reason may be obvious, when one sees Fig. 4 in which the curve tends to be more and more horizontal in higher frequencies, and it is almost impossible to decide a definite point for the curve to intersect the

abscissa. Therefore, the frequency at which the amplitude becomes half of the maximum amplitude (Frequency of Half Maximum Amplitude – FHMA) was adopted instead of the critical fusion frequency. The FHMA, thus obtained, can evidently serve the

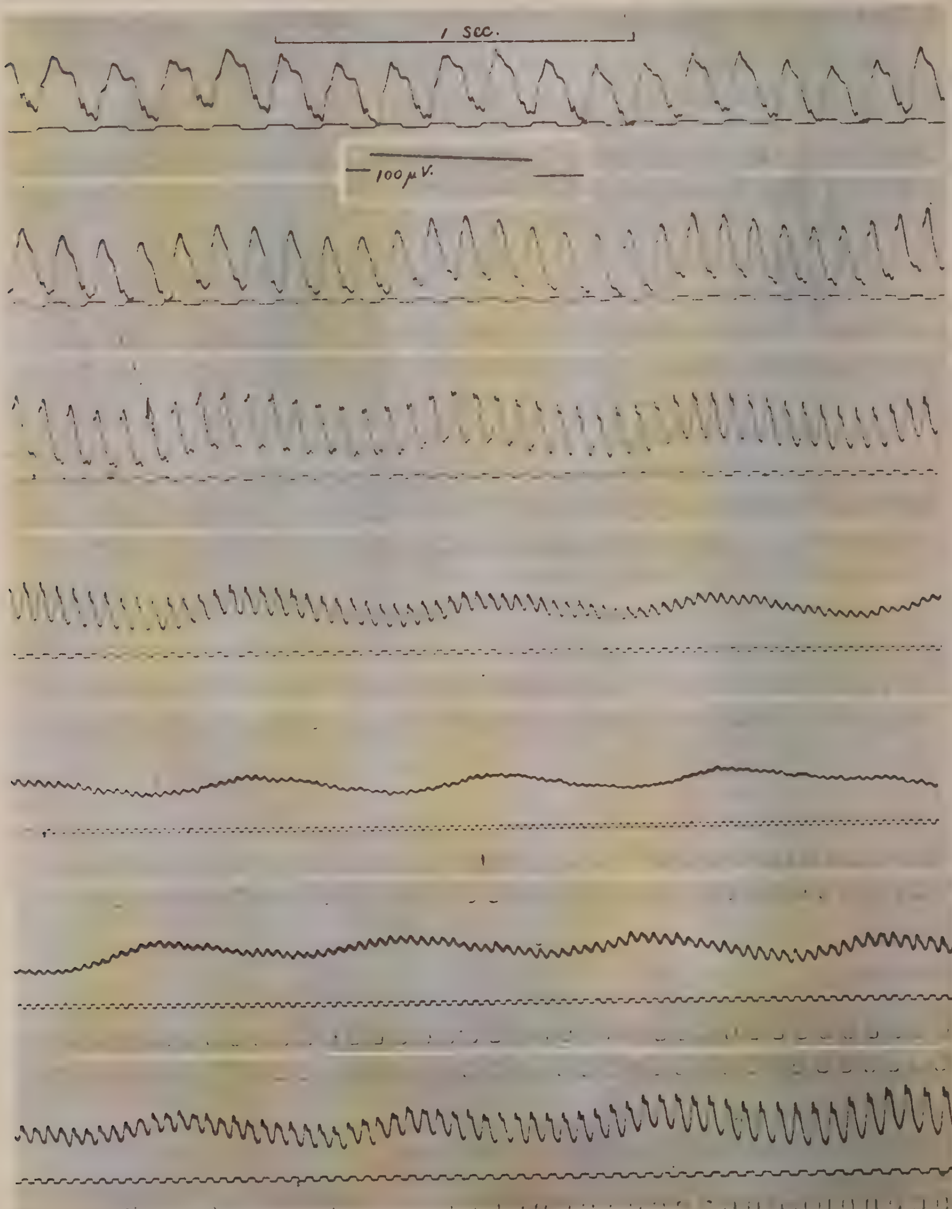


Fig. 3A. Flicker ERG in light-adapted carp (28 cm) eye. Light intensity 760 lux. Bottom trace indicates light period downward and dark period upward. Temperature 16°C. The rhythmical up and down of the record is an artifact caused by fish respiration.

purpose as a relative value to study the flicker ERG of fish.

Results

The ERG produced by a single illumination shows a typical feature with a-, b- and d- wave (Fig. 2). The normal flicker ERG of the light-adapted carp eyes is shown in Fig. 3A, B, C. The general feature of the flicker ERG of carp eye is very similar

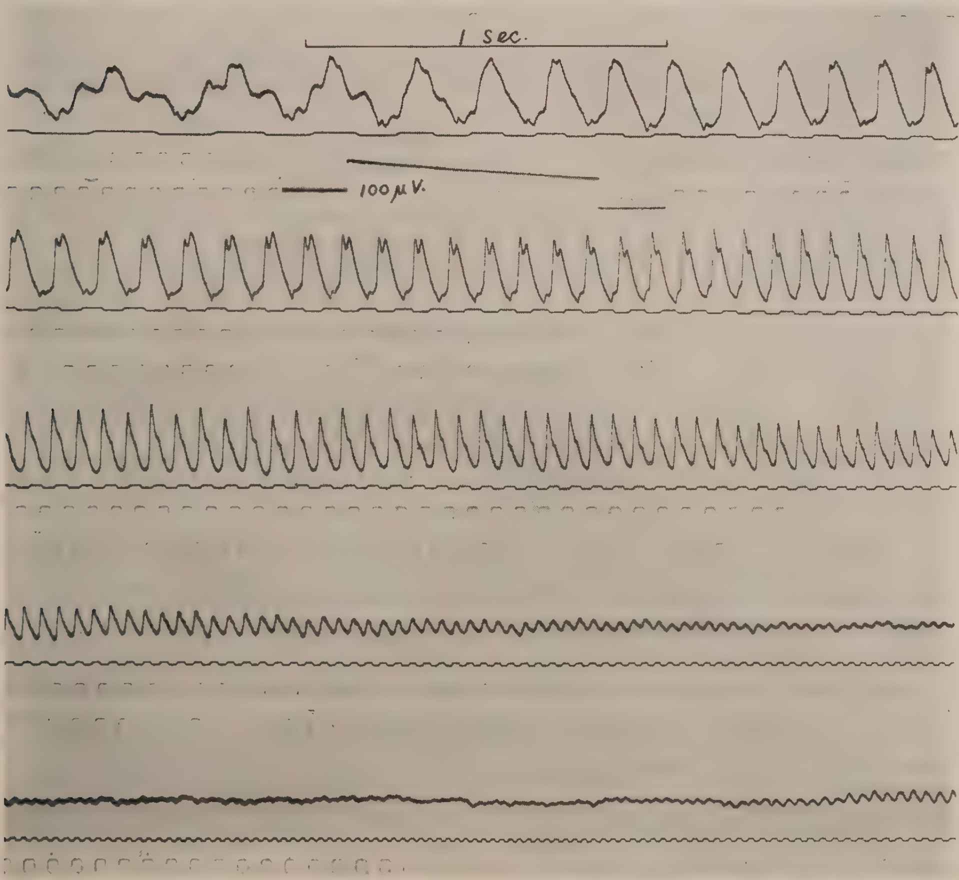


Fig. 3B. Flicker ERG in light-adapted carp (12.7 cm) eye. Light intensity 340 lux. Temperature 13°C. In the middle part of the record large and small amplitudes appear alternately.

to that of human eye obtained by HECK (1957), for instance both of them show the transition from a polyphasic to a diphasic type of curve during increasing flicker frequency. However, in carp eye large and small amplitudes sometimes appeared alternately within a certain range of the frequency (see the middle part of Fig. 3B & C). In such a case the mean of the successive two or four amplitudes was adopted to evaluate the amplitude in that flicker frequency. Thus the relation of the ERG am-

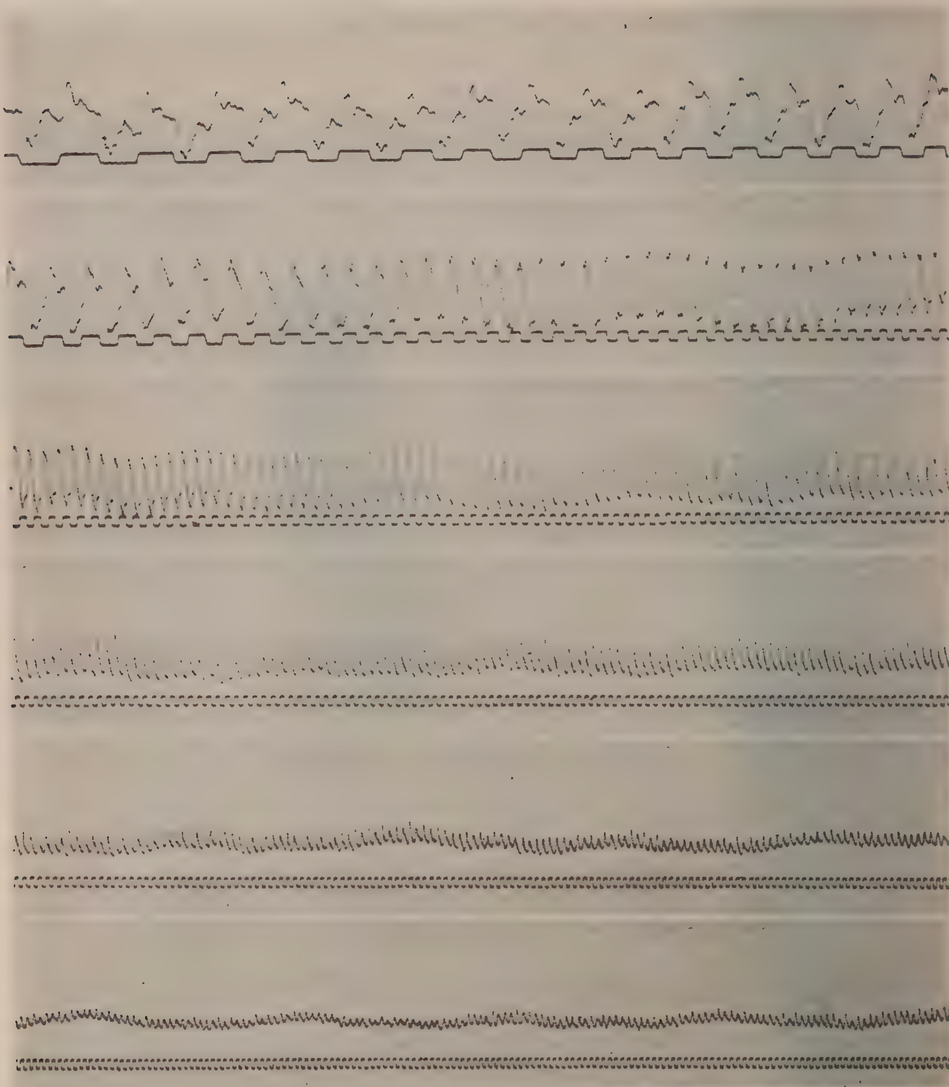


Fig. 3C. Flicker FRG in light-adapted carp (13 cm) eye. Light intensity 4,000 lux. Temperature 24°C.

plitude to the flicker frequency could easily be recorded graphically (Fig. 4). All the FHMA in this study were based on curves similar to Fig. 4.

(1) **The relation between FHMA and temperature.**

The experiments were carried out from early spring to summer. So the experimental temperature covered the range from 10 to 30°C. The relationship is shown in Fig. 5. In this figure, the results of such experiments as below are also included;—

at first one eye of the carp was used in recording flicker ERG at lower temperature, and then the other eye was used at higher temperature after 2 hour acclimatization of the fish in the higher temperature. In such cases the two results are connected with a line in Fig. 5.

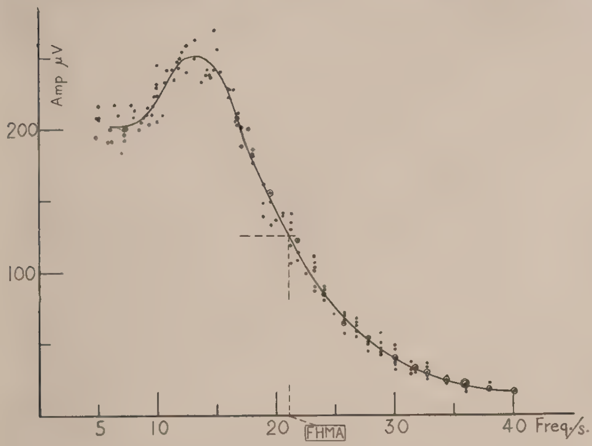


Fig. 4. Relationship between amplitude and frequency in light-adapted carp (32 cm) eye. Light intensity 760 lux. Temperature 14°C. All the FHMA in this paper were based on curves similar to this.

In another set of experiments, the temperature of the 0.3% urethane solution in which the fish was fixed was lowered by dipping ice-bags in the solution or raised by putting hot-water-bottles in it. The results are given in Fig. 6. This type of experiment was repeated three times and almost the same results were obtained each time.

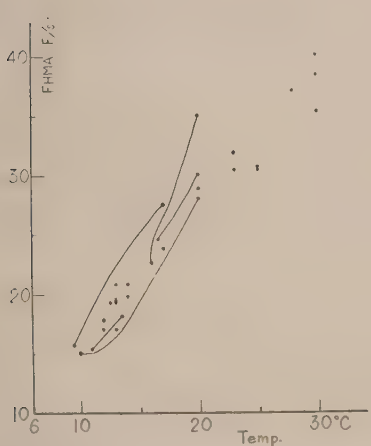


Fig. 5. Relationship between FHMA and temperature in light-adapted carp eyes. Two points connected with a line are the results with a pair of eyes of one carp in the two temperatures. Light intensity 760 lux.

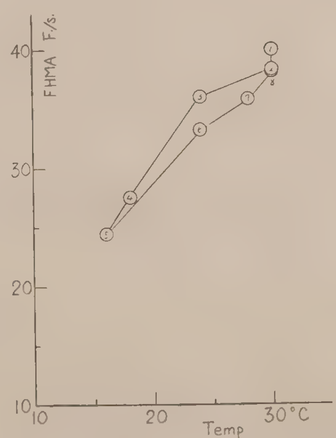


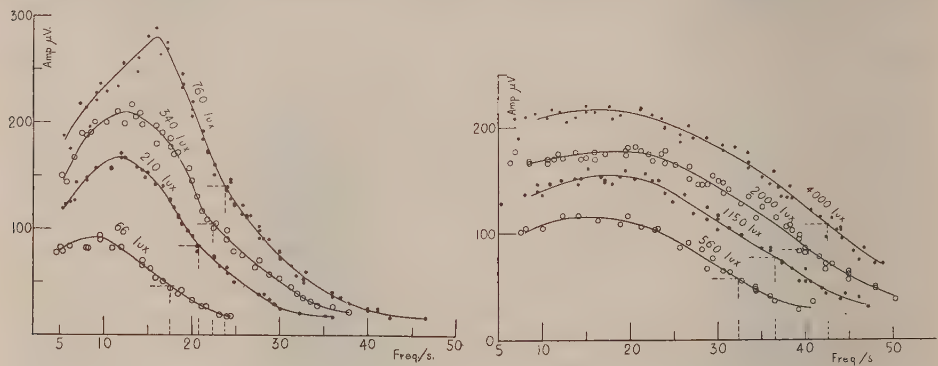
Fig. 6. FHMA in relation to temperature change. The temperature of 0.3% urethane solution in which the carp (9.7 cm) was placed was lowered and raised in the order of the figure in each circle. Each interval 5–10 minutes. Light intensity 760 lux.

From the above-mentioned two sets of experiments, it is concluded that the higher the temperature, the higher the frequency at which the amplitude becomes half of

the maximum amplitude.

(2) **The relation between FHMA and light intensity.**

The light intensity from 66 to 4,000 lux was used in this study. The relationship between the amplitude and the flicker frequency is shown in Fig. 7A & B. The linear



A B

Fig. 7. Relationship between amplitude and frequency in various light intensities. Light-adapted eye.

A. Carp (14 cm). Temperature 16°C.

B. Carp (13 cm). Temperature 24°C.

increase in FHMA with the logalithm of light intensity, according to the FERRY-PORTER law, is evident from Fig. 8. Although a few experiments were performed using stronger stimulus light (10,000—26,000 lux), the results were very irregular. These results are not included in Fig. 8. The cause of the irregularity supposedly is that the eye becomes "dazzled" by extremely strong stimuli. This supposition may be supported by the finding of HECK (1957) that the Cff of ERG in the human eye as well as that of subjective examinations diminishes at high light intensities (about 2,500 lux) because of the dazzle.

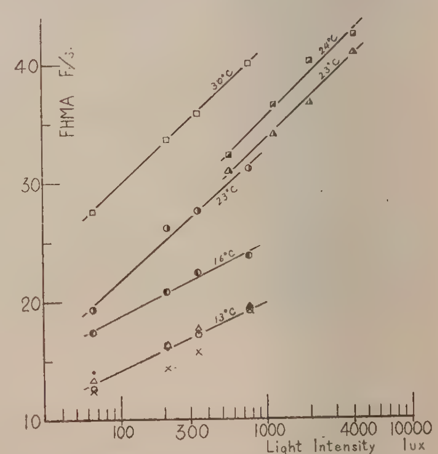


Fig. 8. Relationship between FHMA and light intensity in logalithmic scale. Light-adapted carp eyes.

Discussion

In the light-adapted carp eyes, the rod myoids elongate extremely and the retinal pigments extend to cover the rods completely. This lends support to the assumption that the carp flicker ERG in this experiment is a cone response. Furthermore, the above-mentioned similarity to the humn

cone flicker ERG obtained by HECK (1957) also supports the assumption.

The change of FHMA during the course of experiment was not so noticeably, if the experiment was finished within 30–40 minutes (Table 1). All the experiments in Figs. 5 & 8 were performed within 15 minutes after the anaesthetization of the fish.

Table 1. The change of the FHMA during the course of experiment. The carp (11 cm.) was first lightly anaesthetized by placing it in 1% urethane solution for about 7 minutes and then transferred to 0.3% urethane solution in which the experiments were carried out. Temperature 23°C.

The time after the transfer	Immediately after	10 m. after	20 m. after	30 m. after	40 m. after
FHMA	30.4	31.8	30.0	30.5	29.5

If the FHMA-Temperature relationship like Fig. 5 and the FHMA-Light Intensity relationship like Fig. 8 are obtained in various fish species, they may serve the purpose of comparing the critical fusion frequency or the ability of movement perception between the species. This comparison may be useful to understand the visual behavior of each species.

Summary

1. Instead of the critical fusion frequency (Cff) of the flicker ERG, the frequency at which the amplitude becomes half of the maximum amplitude (FHMA) was adopted to investigate the nature of the flicker ERG in carp.

2. The FHMA of the light-adapted carp eye varies not only with the light intensity (Fig. 8) but also with the temperature (Figs. 5 & 6).

3. If the two relationships—FHMA-Temperature and FHMA-Light Intensity—are obtained in various fish species, they may be useful to compare the Cff or the ability of movement perception between the species.

References

1) WALLS, G. L.: The vertebrate eye and its adaptive radiation. Cranbrook Press, Michigan. 1942.
2) OKA, N.: Dobutu no saisyo-sikizi ni tuite. *Kagaku*, **5**, 82–85. 1935.
3) BENIUC, M.: Bewegungssehen, Verschmerzung und Moment bei Kampffischen. *Zeit. vergl. Physiol.*, **19**, 724. 1933.
4) WOLF, E & G. ZERRAHN-WOLF: Threshold intensity of illumination and flicker frequency for the eye of the sun-fish. *Jour. gen. Physiol.*, **19**, 495–502. 1936.
5) DODT, E.: Cone electroretinography by flicker. *Nature*, **168**, 738. 1951.
6) HECK, J.: The flicker electroretinogram of the human eye. *Acta Physiol. Scand.*, **39**, 158-166. 1957.

塗料原料とする魚油塩素化物の製造に関する研究—VI.

魚油の水酸基，過酸化物による影響

鈴 木 康 策

(1959 年 6 月 19 日受理)

PREPARATION OF A COATING MATERIAL BY CHLORINATION OF FISH OIL—VI. INFLUENCE OF HYDROXY GROUPS AND PEROXIDES IN FISH OIL ON CHLORINATION

Kosaku Suzuki*

Influence of hydroxy groups and peroxides on chlorination must be studied as far as fish oil is used as the raw material for chlorination product. For, their contents in fresh fish oil are usually not large, but increase with autoxidation of oil that advances in storage. The hydroxy groups and peroxides proved to more or less positively retard the chlorination of fish oil. However it seems better to regard the retardation to be caused by various changes in autoxidation of the oil but not as the pure result of the formation of hydroxy groups and peroxides, because the autoxidized oil yielded only a chlorination product little increased in chlorine content, even when it had been strongly reduced in acetyl value by some means before chlorination.

It may be certain from the experiment with oleic acid (Table 5) that oxidized oils yield chlorination products unstable to heat. Fish oils, therefore, must be kept out of oxidation, if desired to be ready as the raw material for chlorination product.

魚油あるいは脂肪酸に含まれる過酸化物，水酸基等がそれ等の塩素化におよぼす影響にかんする報告はない。魚油の水酸基，過酸化物の元来の含有量は僅かであるが，酸化によつて増加するものである。魚油は高度不飽和脂肪酸を含むため酸化を受け易いから，その製取法，貯蔵法の如何によつては水酸基，過酸化物含有量が増大することもあり，魚油を原料とする塗料用塩素化物の製造法においては，一応これらの影響を考慮しておく必要がある。

実 験

1. 融点差による魚油の塩素化率の相違

メカジキの骨から煮取法で製取した後，2年半ないし3年位貯蔵され，明かに酸化臭を持つている油から Table 1 に示すように，融点を基準にして A, B 二種の試料油を分取した。両方ともアルカリ精製したものを塩素化試料とした。なお，元の油中には融点が B 以上の部分もあつたが，これは試料としない。塩素化 (Table 1 の説明) を6回繰返し，A, B 生成物の収量を比較すると，Table 1 のように B の方がやや多いように見えるので，これら6回の生成物を A, B それぞれ混合して，その塩素含有率を分析（カリウス法）して見ると，同表下段のようになつた。A, B 間の差はごく僅かであるが，1% の危険率で有意と判定される。

* 東京水産大学沼津実習場 (Numazu Fish. Lab., Tokyo Univ. Fish., Numazu, Shizuoka Pref., Japan).

Table 1. Remarks on the sample oils and their chlorination products.

			A oil	B oil
Sample oil	mp		10°C>	25～45°C
	Acid value		0.70	0.76
	Iodine value		107.6	95.8
Product*	Yield	No. 1	12.5g	12.6g
		2	13.0	13.1
		3	12.7	13.0
		4	12.3	13.2
		5	13.0	12.5
		6	13.0	13.2
	Chlorine content of the mixture of above six products		59.5%	61.1%
			60.4	61.1
			59.9	61.4
			60.2	61.3
			59.8	61.5
			59.4	61.3
			60.1	61.4
			59.9	61.9
			60.7	—
			59.8	—
		average	59.9_7	61.3_7

* 5g of sample dissolved in 15cc of carbontetrachloride was chlorinated by aeration of chlorine, till no more reaction went on. The solvent and other volatile matters were expelled from the reaction mixture by heating on a water bath under reduced pressure (1.5～1.0 cmHg). The residue thus obtained is the present product.

Table 2. Chlorine contents of the chlorination products obtained from the oil which was treated or not treated with palmitoyl chloride.

	Intact oil	Oil treated with palmitoyl chloride
Acid value	3.0	2.9
Acetyl value	47.3	29.6
Chlorine content of chlorination product	60.1%	61.3%
	60.0	61.5
	60.2	61.2

つぎに，B油の塩素化率の方が大である理由を考えて見よう。まず，A，B とも相似た酸価であるからその影響[1]は問題にならない。つぎにヨウ素価はA油の方がやや大であり，むしろBよりこの方が一見塩素化され易いように思われるが，不飽和基に添加する塩素は塩素化生成物の全塩素の 20% ぐらい[2]に過ぎないから， A, B のこの程度の不飽和度の差は塩素化に影響を与える直接の原因とはならないと判断すべきであろう。しかし，魚油の貯蔵中における自動酸化は不飽和基において起り易い。したがつてB油よりA油の方が多く酸化の影響を受けているだろうと想像される。酸化すれば過酸化物あるいはオキシ酸を生ずるが魚油の酸化のある過程では過酸化物がかえつて減少することもあるから，今はA油，B油のアセチル価を測定[3]して見た。A 油‥‥48.3, B 油‥‥43.5 であり，A 油の方がやや大きい。B油の塩素化率が大きい理由はアセチル価の差にあるのか，アセチル価との関係を調べて見よう。

2. 魚油の水酸基が塩素化におよぼす影響

魚油中の水酸基の存在については，オキシ酸の外に，ジ(またはモノ)グリセライドのように，グリセリンの水酸基の一部がエステル化しないで存在する場合もある。いづれの場合にしても，もし水酸基が塩素化率の低下を来す原因ならば，これをエステル化するか除去することによつて塩素化率の増大が招来されなければならない。これを確かめるためにつぎの実験を行つた。

(i) パルミチン酸によるエステル化

パルミチン酸は通常の魚油に含まれている脂肪酸であるから，これを用いて魚油の水酸基の一部をエステル化した。その方法は，冷却器をつけた丸底フラスコにパルミチン酸（中和価 219.3, mp 61.8～62.2, 分子量 259）17.8g を取り，85% 塩化チオニール 19.7g（両者のモル比 1: 2）を加え，塩化水素の発生が止むまで（約2時間）60°C に放置する。つぎに沸騰水浴で加熱し，減圧で過剰の塩化チオニールを除き，僅かに淡黄色の液体（パルミチン酸クロライド）18.2g を得た。これを元の（A油，B油を分けない）メカジキ油 36g に加え，150°C 1時間加熱後（これ以上4時間加熱しても，そのアルカリ精製油のアセチル価は変化しない）放冷し，メタノール 50cc を加え加温洗浄し，上層のメタノール可溶部を捨てる。この洗浄を4回行つた後，常法によりアルカリ精製して得た油につきアセチル価を測定し，またこれを塩素化して得られる生成物の塩素含有率を分析し，エステル化の処理をしない元の油と比べると，Table 2 のように，処理によつてアセチル価が減少し，僅かながらこの方が多く塩素化されることが明かである。

(ii) 修酸処理による水酸基の除去

酸価 6.34, ケン化価 196.9 の魚油を単にアルカリ精製したものと，修酸処理[1]によつて一部水酸基を除去した後，アルカリ精製したもののアセチル価，これを前同様に塩素化にして得た生成物の塩素含有率を

Table 3 に示す。アセチル価を減少せしめると塩素化率は僅かではあるが明かに増大する。

修酸処理の方法は魚油 30g に脱水修酸 5g を加え，魚油表面に炭酸ガスを通じつつ，95～100°C，1 時間加熱（大体発泡止む）した後，分液沪斗に沪過し，水 50cc を加え，水中に水蒸気を通して沸騰せしめ，静置して水を捨て，この水が酸性を示さなくなるまでこの洗浄を繰返し，つぎに常法にしたがつてアルカリ精製を行う。

(iii) 修酸処理したヒマシ油の塩素化

ヒマシ油は新鮮なものでも，それ自体アセチル価の大きいものである。ゆえに水酸基が塩素化の障害となるならば，この油は相当塩素化されにくいに違いない。よつて (ii) 同様に修酸処理，アルカリ精製したものを塩素化して見ると，魚油に比べてアセチル価が甚だ大きいにもかかわらず，生成物の塩素含有率は同程度である (Table 4)。しかし，この場合でもアセチル価が小さい油程，生成物の塩素含有率の高いことが明かである。ここに用いたヒマシ油は，局方ヒマシ油（ヒマシ油 990cc，ハッカ油 5cc，オレンジ油 5cc の混合）で，酸価が 6.78 であつたので，アルカリ精製し，酸価 0.82，ケン化価 180.4，アセチル価 165.2 のものを使用した。

Table 3. Chlorine contents of chlorination products of an oil simply alkalirefined and of another oil alkalirefined after treatment with anhydrous oxalic acid.

		Treatment of oil: Alkali-refinement	Treatment of oil: Treatment with oxalic acid followed by alkali-refinement
Oil	Acid value	1.78	1.81
	Acetyl value	38.6	13.7
Chlorination product	Chlorine content	62.59%	63.24%
		62.63	62.95
		62.12	63.66
		62.00	63.52
		62.31	63.98
		62.58	63.91
		62.67	—
	(average	62.41	63.54)

Table 4. Acetyl values of castor oils (Ph. Japan) and chlorine contents of their chlorination products.

		A	B	C
Oil	Acid value	0.82	0.85	0.79
	Acetyl value	165.2	155.2	151.1
	Chlorine contents of products	59.27%	59.56%	63.00%
		58.48	60.98	62.14
		59.21	61.25	62.74
		59.87	60.93	
		60.13	61.42	
			60.85	
	(average	59.39	60.83	62.67)

A: Alkali-refined oil.
B, C: Oil treated with oxalic acid to diminish acetyl value and then alkali-refined.

3. 過酸化物の塩素化におよぼす影響

魚油が貯蔵中に自動酸化して過酸化物含有量を増しやがて減少する過程をたどる。この過程において過酸化物が魚油の塩素化におよぼす影響を知りたいのであるが，魚油が酸化して過酸化物を増大したり，分解減少したりすると，通常酸価の変化をともなうので，塩素化にはそのための影響も混入してくるため，酸化油をアルカリ精製しなければならなくなる。すると精製の結果，魚油の過酸化物価は必ずしも期待通りにならないので，なかなか実験条件を管理しにくい。それでオレイン酸を用いて実験した。しかし油脂の自動酸化は少くとも初期には脂肪酸において起きるのであるから，この実験結果から魚油の場合を類推しても大差な

Table 5. Chlorine content of chlorination product of an oleic acid oxydized by aeration.

Time of aeration	0 min.	10 min.	30 min.	3.5 hr.	22 hr.	28 hr.
Peroxide*	0 cc	0.77 cc	1.29 cc	2.95 cc	1.46 cc	1.13 cc
Neutralization value	201.0	200.0	196.0	189.6	177.0	168.3
Chlorine content of the product	63.5%	— %	56.2%	48.4%	53.5%	54.4%
	64.2	60.4	56.6	50.2	54.3	54.5
Color of the product	Pale yellow ⟶				Dark brown**	

* cc of 0.1N $Na_2S_2O_3$ solution per 1g of oleic acid.
** Dark color indicates weakness against heat.

いと考えられる。

オレイン酸を 90～95°C に加熱しながら，水酸化ナトリウム濃水溶液，濃硫酸を通した空気を一定速度で吹込んで，空気酸化を続け，途中適宜に一部を取出して過酸化物[5]，中和価を測定し，かつ前同様に塩素化し，生成物の塩素含有率を分析した。結果は Table 5 の通りである。これによれば，酸化して過酸化物が多くなるにしたがつてその塩素化物の塩素含有率が低下し，さらに酸化してやがて過酸化物が分解減少すれば，これに応じて塩素化物の塩素含有率は再び高くなる。よつて過酸化物はオレイン酸の塩素化の障害となることが明かである。魚油の場合も同じ影響があるものと思われる。

考　　　察

酸化魚油はアセチル価の大きいもの程塩素化率が小さく，かつアセチル価を何等かの手段によつて減少せしめれば，塩素化率が多少とも大きくなるから，水酸基の存在はもちろん塩素化を阻害する一つの原因であることに間違いない。しかし，Table 2 や 3 のように，アセチル価をかなり減少せしめても塩素化率が僅かしか増大しないこと，および，ヒマシ油は魚油より著しく大きいアセチル価を持つているにもかかわらず塩素化率は特別には低くなく，魚油と同程度であること，などから見れば，塩素化の障害となるのは水酸基そのものより，むしろ魚油の酸化による諸変化の総合的な影響であろうと考えられる。水酸基の増加は酸化による変化の一部にすぎない。Table 5 のように，過酸化物の増加とともに塩素化率が減り，さらに酸化して過酸化物が減少する段階に至れば，塩素化率は再び増大するが，通気酸化 22 時間以後は過酸化物が減少するけれども塩素化率はもはや増大しない。これは過酸化物の影響ばかりでなく，酸化によるその他色々の作用があるためであろう。また Table 5 のように酸化されたオレイン酸の塩素化物は褐色である。これは塩素化反応終了後，溶剤等を加熱蒸発せしめる時に着色してくるもので酸化の著しい試料程，着色も濃くなる。つまり生成された塩素化物の耐熱性が弱くなるのである。魚油もこれと同様に考えられる。魚油の酸化によつて生ずる塩素化阻害の原因は精製によつて除かれ難いから，原料としては新鮮なものが適当である。

要　　　約

自然に酸化したメカジキ油の低融点部分は高融点部分より塩素化率が低い。魚油が酸化して水酸基，過酸化物等を生じた場合，これらが魚油の塩素化を阻害することは明かであるが，ただ単にそれら自体よりも酸化によつて生じた諸変化が総合的に作用して魚油の塩素化を阻害すると考えられる。不飽和度の大きい低融点部分が酸化を受け易く，したがつて高融点部分に比べて塩素化率が低いものと思われる。また酸化油の塩素化物は耐熱性が弱い。

終りに，御指導を仰いだ東京工業大学舟木教授に対し厚く感謝の意を表します。

文　　　献

1) 鈴木康策： 本誌，**24**，45 (1958).
2) ――――： ――，―，1008 (1959).
3) ――――： 工化，**60**，1128 (1957).
4) 舟久保英一： 有機化合物確認法，上巻 284 頁，養賢堂，昭和 29 年.
5) C. A. 45, 9281d (1951)
〔N. Drozdow, L. STARIKOVA： S. S. S. R. **22**, No. 3, 52～55 (1951)〕.

カ ツ オ ブ シ の 品 質—I.

試料の調製——ダシのとり方

大石圭一・田村祐子・村田喜一

(1959 年 6 月 22 日受理)

ON THE QUALITY OF *KATSUWO-BUSHI* (DRIED BONITO MEAT ONE OF THE POPULAR SEASONINGS IN JAPAN)—I. METHODS OF PREPARING THE STOCK FROM *KATSUWO-BUSHI*.

Keiichi Ōishi, Yūko Tamura and Kiichi Murata*

Being extracted with hot water, dried bonito which is called "*Katsuwo-bushi*" in Japan is used to season "*Suimono*" (a kind of soup). The taste of the soup differs in accordance to the conditions of the extraction, e. g., extracting temperature, extracting time and quantity of the extractive water. According to the results of these conditions are as follows: The liquid which is extracted from three per cent of weight of sliced "*Katsuwo-bushi*" to the boiling water for three minutes is most suitable for the soup. It may be remarked additionally, that re-extractive of the residue is used for another kind of "*Katsuwo-bushi*", and the extractive for "*Suimono*" is called "*Ichiban-dashi*". In the following papers in these series, the former is designated as an exhaustive extract whilst the latter is a slight extractive.

緒　　言

カツオブシは古くより重要な調味料として用いられており，大正 2 年に小玉新太郎氏[1] が調味の本体としてイノシン酸ヒスチジン塩（以下 IMP–His と略記する）を取出してから，呈味に関する幾多の研究が行なわれたが，小玉氏の説は訂正されることなく今日に至つている。

しかしながら以前の研究は，分析の精度が低く， IMP–His が呈味の主成分であつても，カツオブシ品質決定の要因になつているか否かは未解決のまま今日に残されている。1950 年以降 bioassay などによりアミノ酸の完全分析が可能となり， 1955 年以降においてはイオン交換樹脂を用いてイノシン酸および類似物質の分離定量が可能となつたので，本報では両方法により，カツオブシの品質と IMP–His および類似物質含量との関係を検討することにした。

カツオブシは煮出汁（ダシ）のとり方で味が大いに異なるもので，人あるいは流儀により，それぞれ特定の方法がある。例えば榊原静太郎氏[2] は "鍋に水 2 升ぐらい入れ，火にかけ沸騰したら火より下して，血合を除いた削鰹35匁を入れ，蓋をし，5 分間蒸しておき，後水嚢でこし，滓を除き去る。ただし，その滓で 2 番出汁が 1 升ぐらい取れる。カツオブシが上等でなかつたら分量も多く入る" といつている。また波多腰氏[3] も抽出法で風味とアミノ酸組成とが異なることを述べている。このように抽出法で味が異なるのであるから味を対象とした研究を試みようとするならば，それに先立つて抽出法の検討を行なわなければならない。

本研究で用いたカツオブシは総て日本橋室町の "にんべん" の高津照五郎氏が鑑定して，研究用として寄贈されたものであつて，実験 1～3 に用いたものは，焼津本節上等品旧節（ヒネブシ）である。実験操作は調理士山口幸之進氏の指導により，函館栄養専門学校．岡崎博，工藤由美子氏の援助の下に行なつた。

* 北海道大学水産学部 食品化学 (Fac. Fish., Hokkaido Univ., Hakodate, Japan).

実　　　験

実験操作　カツオブシを予め温湯に浸し，表面の部分を薄く削つて棄て，削り方を一定にし，また部位による差を除くために一度に全部を削り，血合部分を除いて砕けないように注意しながら混ぜた。削つたものはできるだけ早く使用したが，使用期間中はガラス瓶に密栓をし，冷暗所に貯えた。

水は総て水道水を用い，容器は 300 cc 容のガラス製ビーカーで温度計で攪拌しつつ温度を観測し，熱源は 100 V，60 W の電熱器にスライダックを連結し，熱の調節をした。

味の判定法　この味の良否は極めてデリケートで，判定には訓練された味覚神経の鋭敏な人によらねばならなかつたので，前記調理士山口氏の判定を採用した。なおこの判定は数名の教室員にも納得の行くものであつた。味の基準は吸物用においた。吸物用以外に煮付，おでん用としての味の基準がある。両者はその風味が全く異なつていて，味覚訓練を経る前の研究室員でも容易に識別できる程明らかなものである。吸物用煮出汁のとり方は，低温および高温抽出を避けるのが要点であるが，後者は逆に沸騰を続けて徹底的に抽出するのであつて，吸物用は一番出しで，後者は一番出しと二番出しとを合せたものといえる。

煮出汁のとり方の吟味　吟味すべき要点は，フシの使用量，煮出し温度，煮出し時間の 3 であり，つぎの実験を行なつた。

実験 1. フシ使用量の検討

沸騰水 100 cc に 1, 2, 3, 5, 7, 10 g の削つたフシを入れ，直ちに加熱を止め，3 分後に沪過して試料を作り味の判定を行なつた。その結果，1% では味が薄過ぎて比較にならない。7% と 10% とではこのままで比較すると味が濃過ぎる。2% ではやや薄い感じがするが 3% と 5% とでは区別し難い。結局この条件では 3〜5% が適量であるが，経済的な意味を考慮すれば 3% ということになる。

実験 2. 煮出温度の検討

水 100 cc に 3 g の削節を入れ温度条件を変えて 3 分間抽出し，味の判定をした。温度条件としては実際の操作上，

1) 沸騰を続けるか
2) 沸騰直前の状態におくか
3) 低温 (20°C) から急激に沸騰させるか

の 3 方法が考えられる。これを吟味した結果 2) が最も優れ，1) が最も劣つた。すなわち煮出汁のとり方として沸騰直前に保つことが必要である。ただし調理の場合には，沸騰直前に保つことは困難であるが，沸騰した水にフシを入れ直ちに加熱を止めるという方法は操作し易く効果がほとんど同じであつた。

実験 3. 煮出時間の検討

フシ 3% を使用し，沸騰直前に保つ状態で，1, 3, 5, 7 分抽出し味を調べた。その結果は明瞭ではなかつたが，1 分のものは薄く 7 分のものは濃いようであり，結局 3〜5 分が望ましいということになつた。

以上の実験から，吸物用の一番出しのとり方として，沸騰水 100 cc に削節 3 g を入れ，直ちに加熱を止め，3 分後に沪過するとし，二番出しはその残渣を熱湯抽出 5 回繰返して合したものとし，以後の実験ではこれを分析試料とした。

実験 4. カツオブシ格付の当否の検討

すでに高津氏によつて格付された (1) 土佐本節上等品普通肉，(2) 土佐本節下等品普通肉，の一番出しを作り，その味を調べたところ上記の順になつた。これによつて，この調製法による一番出しはよくカツオブシの品質を反映し，品質検討の試料に適することが判つた。

結　　　論

カツオブシの一番出しのとり方は，沸騰水に3％重量の削節を入れ，直ちに加熱を止め，3分後に沪過するのが最も適当である。これは榊原氏[2]の方法とほとんど一致している。

附　　　記

辻留氏[4]は“たとえ最良品を使つても秒速を争う程のもので俗な言葉であろうがカンの世界である。…・割切つた分量を明記した料理本は本当に不親切だとさえ私は考える”と述べているが，これは，味覚の精度が問題で，高い精度を望み，これに伴なうカンを体得しうる余裕のある人に限られたことでなかろうか。大乗的立場からするとこの結論のように割切つてある方が親切のような気がする。著者ら[5]は昆布のダシについても同様な研究をしてある。

文　　　献

1) 小玉新太郎：　東京化学会誌，**34**，751 (1913).
2) 榊原静太郎：　本膳と宴会料理，全国同盟料理新聞社刊，(1933).
3) 波多腰ヤス：　化学，**10**，364 (1955).
4) 辻　嘉一：　料理のお手本，文芸春秋新社，p. 256，東京 (1957).
5) 大石圭一・田村祐子・佐坂欣二・村田喜一：　北大水産学部研究彙報，**9** (4)，283 (1959).

カツオブシの品質—II.

品質とエキスのアミノ酸組成

大石圭一・田村祐子・村田喜一

(1959年6月22日受理)

ON THE QUALITY OF *KATSUWO-BUSHI*—II. RELATIONS BETWEEN THE QUALITY AND THE AMINO ACID COMPOSITION OF THE EXTRACTIVE OF *KATSUWO-BUSHI*.

Keiichi Ōishi, Yūko Tamura and Kiichi Murata*

The amino acid composition of the six sorts of extractive which are shown in Table 2 are estimated by the microbiological method with results as follows:

(1) No relations are found between the quality of *Katsuwo-bushi* and the composition of the amino acids in their free forms. The same results are obtained respecting combined forms, too.

(2) The differences in the taste of the light extractive (*Ichiban-dashi* for *Suimono*) and the exhaustive extract (*Niban-dashi*) are not explicable on the basis of the amino acid composition.

(3) The differences of the taste between the parts of ordinary and blooded muscle of *Katsuwo-bushi* are likewise not explicable as depending upon amino acid composition.

In short, the characteristics of the quality are not explainable on the basis of amino acid content. Rather the quality is affected by the fat content which seems to contribute to minus effect and be more rich in lower quality.

緒　　言

カツオブシの品質とアミノ酸組成との関係は全く知られていない。本研究はこの点を解明せんとして行なつた。

試料および試供液

試料名，価格，一般成分を第1表に示す。この品質はすでに第1報[1]で検討されたごとく，一番出しの風

Table 1. Names of *Katsuwo-bushi*, chemical compositions and prices.

Name of sample	Moisture %	Ash %	Crude fat %	Crude protein %	Price yen/375g
(A) 土佐本節上等品普通肉	16.8	3.00	1.21	79.2	380
(B) 土佐本節上等品血合肉	17.8	2.99	3.00	72.5	380
(C) 土佐本節下等品普通肉	16.3	2.53	6.35	74.5	250
(D) 三陸亀節下等品普通肉	14.4	2.73	8.31	74.8	220

Names of *Katsuwo-bushi* shown in this table correspond with the above Japanese descriptions (A), (B), etc.

(A) A product from Tosa district, a longitudinal quarter of fish, high quality, part of ordinary meat. (B) Part of blooded meat from the sample of (A). (C) Part of ordinary meat from the same sort of (A), but low quality. (D) A product from Sanriku district, half of fish divided longitudinally, low quality, part of ordinary meat.

* 北海道大学水産学部　食品化学 (Fac. Fish., Hokkaido Univ., Hakodate, Japan).

Table 2. Samples extracted with hot water and chemical constituents.

Name of extractive	Total-N	amino-N mg/*katsuwo-bushi* 100g.
(1) 土佐，上，普通肉，一番出し	970	428
(2) 土佐，上，普通肉，二番出し	110	35.4
(3) 土佐，上，血合肉，一番出し	756	293
(4) 土佐，上，血合肉，二番出し	135	51.6
(5) 土佐，下，普通肉，一番出し 十二番出し	—	442
(6) 三陸，下，普通肉，一番出し 十二番出し	—	478

Names of extractives, corresponding to the above Japanese descriptions (1), (2), etc.
(1) Slight extract of (A). (2) Exhaustive extract of residue of (A). (3) Slight extract of (B). (4) Exhaustive extract of residue of (B). (5) Exhaustive extract of (C). (6) Exhaustive extract of (D).

味と一致したものである。供試液およびその成分は第2表に示す。一番出し，二番だしの定義は第1報による。ただしこの実験の場合，抽出液の脂肪はエーテルで洗滌して除いた。

試料の加水分解はつぎのようにした。煮出汁を減圧濃縮し，これと等量の 6N HCl で洗い出し，アンプルにつめ，120°C 7時間の後，取出して減圧濃縮を繰返し可及的に HCl を除いた後 NaOH で中和し，一定量とした。

実　　験

アミノ酸分析は遊離，結合の両型とも bioassay[2),3)] によつた。その結果を第3表に示す。

Table 3. Free and combined amino acid in the extractives. (mg/100g. of *Katsuwo-bushi*)

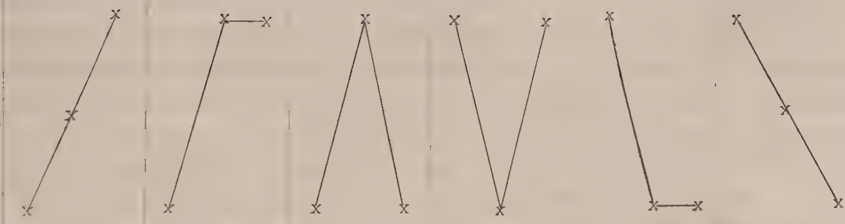
Name of extractive / Amino acid	(1)		(2)		(3)		(4)		(5)		(6)	
	free	combined	free	combined	free	combined	free	combined	free	combined	free	combined
Alanine	80.9	99.3	8.3	56.6	62.8	71.6	10.3	40.0	96.0	100.9	117.5	136.6
Arginine	12.1	85.4	2.0	49.1	9.3	47.3	1.7	33.8	21.4	79.8	27.9	113.0
Aspartic acid	22.2	49.0	1.9	27.7	18.1	27.3	3.4	17.0	20.0	65.2	25.8	101.3
Glutamic acid	36.7	166.8	3.3	94.3	34.8	112.4	6.7	56.9	52.4	212.2	66.3	289.3
Glycine	94.4	254.5	2.2	74.2	54.4	212.3	8.7	98.9	34.9	196.7	36.3	267.4
Histidine	2955	300	227		1675		272		3448	548	3469	83.2
Isoleucine	33.2	27.6	4.6	18.4	22.0	19.6	5.0	10.0	38.4	30.3	45.2	51.9
Leucine	42.3	49.9	1.8	32.5	30.8	34.7	5.1	19.8	29.9	73.6	41.9	100.8
Lysine	75.4	135.8	5.5	66.8	41.4	86.7	7.8	35.9	107.1	169.4	76.0	232.6
Methionine	28.7	21.1	1.4	14.1	15.1	21.1	2.0	10.1	15.9	19.2	117.8	43.9
Phenylalanine	24.4	30.9	2.0	19.4	22.1	19.5	4.8	11.9	19.5	35.9	30.4	54.4
Proline	42.2	41.2	6.3	49.0	27.8	43.2	5.2	31.8	60.8	67.1	57.5	74.7
Serine	34.3	110.2	3.4	48.6	19.1	86.4	4.5	35.5	38.2	101.3	52.5	165.3
Threonine	38.0	37.6	3.3	20.4	23.1	31.8	4.4	17.0	34.9	40.3	48.9	56.1
Tryptophan	4.4		0.7		3.7		1.0		6.4		9.4	
Tyrosine	31.7	12.0	3.5	15.4	22.4	5.6	5.0	4.1	25.9	27.5	35.0	63.1
Valine	55.3	21.1	4.3	24.0	34.7	17.2	6.8	10.5	34.7	47.3	42.7	69.9

* The numbers at the name of extractive is equivalent to those in Table 2.

考　　察

(1) アミノ酸含量と品質との関係

第3表によると，遊離・結合型ともアラニン，グルタミン酸，グリシン，ヒスチジン，リジンが他のアミノ酸よりも多く，とりわけヒスチジンは特に多く，その割合に結合型は少ないという結果になつた。



Type of inclination						
Free form	Alanine Arginine Glutamic acid Iso leucine Serine	Histidine	Lysine Proline	Aspartic acid Leucine Phenylalanine Threonine Tyrosine Valine	Glycine Methionine	
Combined form	Tyrosine Valine		Histidine	Alanine Arginine Aspartic acid Glutamic acid Glycine Leucine Iso leucine Lysine Methionine Phenylalanine Proline Serine Threonine		

Fig. 1. Schemata showing the relations between the quality of *Katsuwo-bushi* vertically and the quantity of amino acids longitudinally.

この結果と品質の良否とを比較するために第1図を作つた。図中，上とあるのは土佐本節上等品普通肉の一番出しと二番出しの合計したものであり，中とあるのは土佐本節下等品普通肉，下とあるのは三陸亀節下等品普通肉である。この図から知られるように良いものに多く，悪いものに少ないという例は見当らない。逆に悪くなる程多くなる傾向のあるものは遊離のアラニン，アルギニン，グルタミン酸，イソロイシン，セリンと結合型のチロシン，バリンであり，大部分のものは上で多く，中で少なく，下になつて再び多いという型に属している。

これらの事実からカツオブシ品質とエキスアミノ酸組成とは遊離・結合の両型とも全く無関係であるといわざるを得ない。

（2） 一番出しおよび二番出しとの比較

エキスアミノ酸含量が品質と関係がないとしても，一番出しと二番出しとの味の相違を示す何物かが知られないかということを考察するため第4表と第5表とを作つた。第4表は普通肉二番出しを1とした普通肉一番出しの比である。この比は一般に遊離型のものが結合型のものよりも大きい。このことにより遊離型は結合型よりも出易いのが知られる。

Table 4. Ratio of amino acid of extractive (1) to that of extractive (2), showing the comparison of the slight extractive to the exhaustive in case of ordinary meat.

Amino acid	Free	Combined
Alanine	9.7	1.7
Arginine	5.9	1.7
Aspartic acid	11.7	1.8
Glutamic acid	11.1	1.7
Glycine	42.1	3.4
Histidine	13.0	
Isoleucine	7.2	1.5
Leucine	23.0	1.8
Lysine	13.6	2.0
Methionine	20.2	1.4
Phenylalanine	12.4	1.5
Proline	6.6	0.8
Serine	9.9	2.2
Threonine	11.4	1.8
Tyrosine	9.1	1.0
Valine	12.9	0.9

第5表は血合肉の同じく一番出しと二番出しの比である。この比は一般に遊離型のものが結合型よりも大きく，この傾向は普通肉よりも著るしく小さい。両表より前記のことを逆に考えると二番出しには Peptide が相対的に多いことが知られる。しかし，それが二番出しの劣る原因となると推定する根拠はなく，むしろその原因はアミノ酸よりも高熱長時間によるところの不味不快物質の溶出ではないかと考えられる。

Table 5. Ratio of amino acid of extractive (3) to (4), showing the comparison of the slight extractive with exhaustive one of blooded meat.

Amino acid	Free	Combined
Alanine	6.0	1.7
Arginine	5.3	1.4
Aspartic acid	5.2	1.6
Glutamic acid	5.2	1.9
Glycine	6.2	2.1
Histidine	6.1	
Isoleucine	4.4	1.9
Leucine	6.0	1.7
Lysine	5.2	2.4
Methionine	7.5	2.0
Phenylalanine	4.6	1.6
Proline	5.3	1.3
Serine	4.3	2.4
Threonine	5.2	1.8
Tyrosine	5.4	1.3
Valine	5.0	1.6

Table 6. Ratio of amino acid of extractive (1) to (3), which shows the comparison of ordinary with blooded meat.

Amino acid	Free	Combined
Alanine	1.2	1.4
Arginine	1.3	1.8
Aspartic acid	1.2	1.7
Glutamic acid	1.0	1.4
Glycine	1.7	1.1
Histidine	1.7	
Isoleucine	1.5	1.4
Leucine	1.3	1.7
Lysine	1.8	1.5
Methionine	1.9	1.0
Phenylalanine	1.1	1.5
Proline	1.5	1.0
Serine	1.7	1.2
Threonine	1.6	1.1
Tyrosine	1.4	2.1
Valine	1.5	1.2

（3） 普通肉と血合肉との比較

同様，普通肉と血合肉とを比較するために第6表を作つた。表は血合肉一番出しを1とした時の普通肉一番出しの値である。この値は，各アミノ酸の遊離・結合型ともほとんど一定していて 1.5 前後である。このことが味の差の原因であるならば抽出水分量を加減することによつて容易に除かれるわけであるが，実際行なつてもそうは行かない。普通肉と血合肉との場合もダシの味の相違はアミノ酸組成によつて説明できない。

（4） 遊離型と結合型との比較

第7表は非加水分解物と加水分解物との比較である。すなわち非加水分解物を1とした場合の加水分解物の値で，加水分解物含量と味との関係を知ろうとするものである。比はアミノ酸の種類によりまた試料の差により関係なくほぼ一定であることが知られる。またこの比は二番出しが著るしく大きいが，二番出しには比較的に結合型の多いことから当然であろう。

Table 7. Ratio of combined amino acid to free from.

Amino acid	Name of extractive					
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
Alanine	2.1	4.8	2.2	7.8	2.1	2.1
Arginine	6.1	20.4	8.0	25.1	4.7	5.0
Aspartic acid	2.5	5.9	3.2	15.7	4.2	4.9
Glutamic acid	4.2	9.5	5.5	29.7	5.0	5.3
Glycine	4.9	1.2	3.6	34.1	6.6	8.3
Histidine	0.9	0.9	1.1	1.0	1.1	1.0
Isoleucine	1.8	2.9	1.8	4.9	1.7	2.1
Leucine	2.1	4.8	2.4	18.7	3.4	3.4
Lysine	3.1	5.5	2.8	13.2	2.5	4.1
Methionine	2.3	6.0	1.7	10.9	2.2	3.4
Phenylalanine	1.8	3.4	2.2	10.9	2.8	2.7
Proline	2.5	7.1	1.9	8.7	2.1	2.2
Serine	5.5	8.9	4.2	15.1	3.6	4.1
Threonine	2.3	4.8	1.9	7.1	2.1	2.1
Tyrosine	1.2	1.8	1.3	4.6	2.1	2.8
Valine	1.4	2.5	1.3	6.6	2.3	2.6

(5) 結 論

以上の考察によると，エキスアミノ酸量とカツオブシ品質との間には関係がない。また一番出しと二番出しおよび普通肉と血合肉との間の味の相違もアミノ酸含量で説明できない。加水分解物のアミノ酸組成からも，品質との関連を見出すことができない。これではカツオブシの味の優劣を特色づけるものはアミノ酸組成であるといえない。このことはアミノ酸の呈味性を否定するものでなく，少なくもカツオブシの品質を規制する要因となつていないことを物語るものである。

要 約

（1） カツオブシの品質とアミノ酸組成とは関係がない。

（2） 一番出しと二番出しとでは一般に遊離型，結合型ともに一番出しの方が含量多く，この傾向は遊離型が著るしい。

（3） 血合肉と普通肉とで各アミノ酸は遊離型，結合型とも比はほとんど一定である。

（4） 遊離型および遊離結合両型との比はアミノ酸の種類および試料の差に関係なくほぼ一定である。

文 献

1) 大石圭一・田村祐子・村田喜一： 本誌，(1959).

2) 田村学造・角田俊直・桐村二郎・宮沢 滋： 農化，**26**，464 (1946).

3) 松浦文雄・鴻巣章二・太田良三・香取進一・田中清枝： 日水誌，**20**，941 (1955).

カツオブシの品質—III.
品質とイノシン酸および類似物質

大石圭一・田村祐子・村田喜一

(1959 年 6 月 22 日受理)

ON THE QUALITY OF *KATSUWO-BUSHI*—III.
RELATIONS BETWEEN THE QUALITY AND THE AMOUNT OF INOSINIC ACID AND RELATED COMPOUNDS.

Keiichi Ōishi, Yūko Tamura and Kiichi Murata*

No relations are found between the quality and the amount of hypoxanthine, inosine, adenylic acid and inosinic acid. The differences of palatability between the slight and exhaustive extractives, or between ordinary and blooded parts of the meat are also not explainable on basis of the quantity and sorts of inosinic acid-like substances.

緒　　言

アミノ酸組成同様イノシン酸およびその類似物質との関係は全く知られていない。よつて本報ではこの問題を取上げた。

試料および供試液

第2報[1]のアミノ酸分析に使用した供試液をそのまま用いた。ただし実験の都合によりトルオールで防腐しながら，0°C の冷蔵庫に約 10 カ月貯蔵したものである。

実　　験

本学部の斎藤恒行，新井健一両氏[1]の検討した方法によつた。分析結果を第1表に示す。

Table 1. Purine base, nucleoside and nucleotides in *Katsuwo-bushi* extractives. The numbers marked on the explanation of the extractive are equivalent respectively to the ones shown in Table 2 of the previous paper in these series.

	I+Hyp	AMP	IMP mg·%
(1) 土佐，上，普通肉，一番出し	413	68	127
(2) 土佐，上，普通肉，二番出し	240	82	98
(3) 土佐，上，血合肉，一番出し	376	104	114
(4) 土佐，上，血合肉，二番出し	242	100	92
(5) 土佐，下，普通肉{一番出し 十二番出し	396	71	279
(6) 三陸，下，普通肉{一番出し 十二番出し	663	44	28

I····Inosine.　Hyp····Hypoxanthine.
AMP····Adenosine mono phosphate (Adenylic acid).
IMP····Inosine mono phosphate (Inosinic acid).

考　　察

この結果ではアミノ酸の場合と同様いづれの化合物も品質と一致して増減していない。したがつてこれらの物質もカツオブシの品質を規制しているとはいえない。

ここに注目すべきことは，二番出しにもほぼ一番出しに匹敵するほど，いづれの化合物も抽出されていることである。この点を考慮すると，一番出しの味を特色づけるものはこれら一群の物質であるとはいい難い。

* 北海道大学水産学部　食品化学 (Fac. Fish., Hokkaido Univ., Hakodate, Japan).

普通肉と血合肉とについて考えてみても含量に著しい変化がない。それ故両者の差異もこれらの物質によつて説明することができない。

三陸下等品のイノシン酸は非常に少く反対にイノシン，ヒポキオンチンの含量が多い。これはあるいは0°C に保存中の変化ではないかとも考えられる。

以上の考察によつてカツオブシの品質とイノシン酸およびその類似物質とは関係がないことが明らかであり，また前報[1]のカツオブシの分析結果では，品質が下るにつれて脂肪含量が多くなつていた。カツオブシの品質と脂肪含量とは負の関係にあることは従来[3]ともいわれていることであり，むしろカツオブシの品質を規制するものは脂肪含量であつて，これが負の要因となり，またこれが多い程品質が劣つているようである。

結　　論

カツオブシの品質とイノシン，ヒポキサンチン，アデニール酸，イノシン酸含量とは関係がない。

謝　　辞

分析法を教示された斎藤新井両氏に，また分析操作の検討に協力された伊東定英氏に厚く感謝する。

文　　献

1) 大石圭一・田村祐子・村田喜一： 本誌，(1959).
2) T. Saito, K. Arai: *Arch. Biochem. Biophys.*, **73**, 315 (1958).
3) 古川吉男： 節類，44 pp.，厚生閣（東京），(1940).

カツオブシの品質—IV.
再び品質とイノシン酸ヒスチジン塩および類似物質との関係について

大石圭一・田村祐子・村田喜一

(1959 年 6 月 22 日受理)

ON THE QUALITY OF *KATSUWO-BUSHI*—IV-
ON THE RELATIONS BETWEEN THE QUALITY AND HISTIDINE INOSINATE-LIKE SUBSTANCES, AGAIN.

Keiichi Ōishi, Yūko Tamura and Kiichi Murata*

As reported in Parts 2 and 3 of this series of studies, the quality of *Katsuwo-bushi* is not decided by the content of seventeen sorts of amino acid, hypoxanthine and inosine, adenylic acid and inosinic acid, but rather seems to be affected by the fat content. To make certain about this point, the same experiment was repeated for the *Katsuwo-bushi* chosen anew; the following results were obtained.

The quality is not decided by the amino acid composition nor by the content of inosinic acid related substances, and the fatty *Katsuwo-bushi* is not always inferior to the lean in quality.

緒　　言

先に[1] カツオブシの品質はイノシン酸ヒスチジン塩ならびにこれとの関連物質によつて律せられず，むしろ脂肪含量によつて支配されているとの結論をだした。しかしながら，カツオブシの呈味の本体としてイノシン酸ヒスチジン塩が提唱されてからすでに 40 有余年，この間にカツオブシの品質とその物質とはプラスの相関があろうと漠然と考えられ，それが当然と思われ勝ちな昨今である。慎重を期して先の結論をさらに検討してみた。

今回は特に脂肪含量の影響を確認するために試料の撰択には特に考慮を払つた。

試料および供試液

試料は高津照五郎氏の鑑定による，(1) 土佐本節上等品でしかも特に脂肪の多いもの，(2) 土佐本節下等品で特に脂肪の少いもの，および (3) 特に多いもの，さらに (4) 三陸亀節下等品の 4 種である。

これらのカツオブシ試料の水分，脂肪量，エキス中のアミノN量を測定し第 1 表に示した。この結果は，脂肪含量に関する高津氏の鑑定と一致した。

つぎにこれらの試料を普通肉と血合肉とに分け，それぞれについて一番出しを調製し味覚試験を行つた。panel は当研究室員 9 名，判定基準は第 1 報[1] 記載により，試料名は秘した。採点は順位法，すなわち最も優れるものに 1 点，最も劣るものに 8 点，中間には味覚の程度に応じて配点し，これを合計した。結果を第 2 表に示す。この結果では血合肉は普通肉より著しく劣り，土佐下等品で脂肪の少いものは多いものより優るが，脂肪の多い上等品よりは劣るという傾向を示した。この傾向は普通肉，血合肉とも同じであり，ダシ

* 北海道大学水産学部　食品化学 (Fac. Fish., Hokkaido Univ., Hakodate, Japan).

Table 1. The results of sensory test on the extractive of *Katsuwo-bushi*. The name of *Katsuwo-bushi* viz., "Parts of ordinary meat of *Katsuwo-bushi* which is produced in Tosa district and high quality" is abbreviated as "Tosa-better, ordinary".

No. of *Katsuwo-bushi*	A	B	C	D	E	F	G	H
Ranking scores of nine panel	8	1	6	2	4	7	3	5
	7	2	5	1	4	8	3	6
	7	2	6	1	4	8	3	5
	5	1	8	2	4	6	3	7
	8	1	7	2	4	5	3	6
	8	1	7	2	4	5	3	6
	8	2	7	1	4	5	3	6
	8	2	7	3	4	5	1	6
	4	2	6	3	7	5	1	8
Sum of scores	63	14	59	17	39	54	23	55

Name of *Katsuwo-bushi*	Sum of scores
B. Tosa-better, ordinary (土佐，上，普)	14
D. Tosa-lower, lean and ordinary (土佐，下，脂肪多いもの，普)	17
G. Tosa-lower, fatty and ordinary (土佐，下，脂肪多いもの，普)	23
E. Sanriku-lower, ordinary (三陸，下，普)	39
F. Tosa-better, blooded (土佐，上，血合)	54
H. Tosa-lower, lean and blooded (土佐，下，脂肪少いもの，血合)	55
C. Tosa-lower, fatty and blooded (土佐，下，脂肪多いもの，血合)	59
A. Sanriku-lower, blooded (三陸，下，血合)	63

Table 2. Chemical composition of the *Katsuwo-bushi*.

Sample	Moisture %	Crude fat %	Amino-N mg·%
B	15.1	3.97	540
F	15.0	7.25	446
D	13.9	1.78	578
G	14.7	9.18	486
E	14.2	8.22	567

の味に関しても高津氏の鑑定と一致した。

供試液はカンナで削つた試料のフシを熱湯抽出を5回繰返えし，さらにこれらをエーテル脱脂したものを用いた。これは第1報でいう一番出しと二番出しの合量である。

実験および結果

分析法は第 2，3 報と同様である。ただしヒスチジンの場合のみ Dowex-50 によるイオン交換樹脂を用いる方法[2]によつた。結果は第 3，4 表に示す。

考　　察

第 3，4 表の結果は，前報と全く同様であつて，前回の結論をさらに裏付けるものである。三陸亀節のイノシン酸含量は前回に較べるとかなり多い。このことは前回のサンプルは貯蔵中に変化したものを示すのであるか否かは速断し難いのであるが，同時に試料の個体変化についても一考を要するものと考

Table 3. Amino acid composition of extractive of *Katsuwo-bushi*. (Unit; mg of amino acid/100g of *Katsuwo-bushi*)

Amino acid	B	F	D	G	E
Alanine	84.0	82.1	91.7	54.9	106.2
Arginine	16.2	9.6	31.8	13.5	39.4
Aspartic acid	18.8	16.8	27.1	15.6	25.2
Glutamic acid	28.3	13.9	45.6	34.2	50.3
Glycine	20.0	14.4	25.5	12.4	21.0
Histidine	3050	961.4	2014	3021	2572
Isoleucine	20.3	17.4	26.7	14.1	23.6
Leucine	40.7	36.6	45.8	16.0	63.0
Lysine	48.2	29.5	67.6	44.5	93.3
Methionine	20.7	14.8	26.2	13.4	27.4
Phenylalanine	22.5	25.5	37.7	14.8	30.4
Proline	21.9	27.6	22.1	11.7	26.4
Serine	30.9	27.6	36.6	14.9	33.5
Threonine	30.3	21.4	38.6	21.2	39.8
Tryptophan	4.9	2.4	6.4	2.5	5.8
Tyrosine	22.1	13.1	31.3	9.8	21.8
Valine	25.6	28.8	40.9	25.5	53.5

Table 4. IMP and relating substances of extractive of *Katsuwo-bushi*. (mg/100g. of *Katsuwo-bushi*)

	I + Hyp	AMP	IMP
B	423	90	269
F	363	146	140
D	595	82	103
G	141	83	380
E	387	105	225

える。

謝　　　辞

カツオブシの試料を鑑定し寄贈せられた“にんべん”高津照五郎氏に厚く感謝する。

文　　　献

1) 大石圭一・田村祐子・村田喜一: 本誌 **25**, 639～645 (1959).
2) MOORE, S. and STEIN, W. H.: *J. Biol. Chem.*, **192**, 663 (1951).

カツオブシの品質—V.
さらに品質とイノシン酸ヒスチジン塩との関係について

大石圭一・田村祐子・村田喜一

(1959 年 6 月 22 日受理)

ON THE QUALITY OF *KATSUWO-BUSHI*—V.
ON THE RELATIONS BETWEEN THE QUALITY AND HISTIDINE INOSINATE, THRICE.

Keiichi ŌISHI, Yūko TAMURA and Kiichi MURATA*

Experiments were carried out twice already with the finding that factors deciding the quality of *Katsuwo-bushi* are not histidine inosinate-like substances, but rather seem to be fat-content. However it is obscure whether the relations exist beyond the degree of individual variation or not. Therefore, quantitative determinations were made of moisture, fat, amino nitrogen, histidine, adenylic acid and inosinic acid using six pieces each of best and lowest quality of *Katsuwo-bushi*. Analyzing with significance test of two means of each determined values, the writers found only fat and inosinic acid contents to be significant, i. e., in the best quality a smaller amount of fat and larger amount of inosinic acid are contained obviously than in the lowest quality. Inosinic acid, in some instances, can be the factor deciding the quality as well as fat content.

緒　　言

第2,3および4報によりカツオブシの品質はアミノ酸組成，イノシン酸およびその類似物質の含量から規制できないことを，また品質と脂肪含量とは逆の関係があることを二度繰返して知りえた。その場合，特にイノシン酸類似物質は，同じ等級のカツオブシの中にあつて含量の変化が著るしいので，先の結果を客観的かつ普遍的な事実として認めるには，個体変化の程度を勘案して結果を判断し結論を導かねばならない。それ故，同様な問題を三度とりあげて実験することにした。

実　　験

試　料　試料としては，全く同じ商品として扱いうる土佐本節上等品 6 ケおよび三陸亀節下等品 6 ケを選び，その普通肉の部分を普通に削つたものを熱湯で繰返し抽出して，いわゆる一番出しと二番出しとを一緒に混ぜたダシを作り，これを分析供試液とした。

実験方法　カツオブシそのものの水分，粗脂肪，抽出液のアミノ窒素，ヒスチジン，アデニール酸(AMP)およびイノシン酸 (IMP) を定量した。前報と同様ヒスチジンは Stein, Moore のイオン交換樹脂法，AMP, IMP は斎藤，新井の方法で行なつた。

実験結果　土佐本節上等品の結果を第 1 表に，三陸亀節下等品を第 2 表に示す。

* 北海道大学水産学部　食品化学 (Fac. Fish., Hokkaido Univ., Hakodate, Japan).

Table 1. Individual variation of chemical composition of six pieces of Tosa-better. (The quantities are shown per 100g. of fresh (undried) *Katsuwo-bushi*).

	Weight g.	Moisture %	Crude fat %	Amino-N mg・%	Histidine mg・%	AMP mg・%	IMP mg・%
A	—	15.8	4.46	495	2989	105	350
B	—	15.4	3.87	406	2669	112	334
C	160	14.2	4.15	449	2080	110	274
D	195	14.9	3.99	425	2987	129	476
E	145	14.4	4.33	390	2480	83	419
F	165	16.2	4.03	487	2355	111	493

Table 2. Individual variation in chemical compositions of six pieces of Sanriku-lower.

	Weight g.	Moisture %	Crude fat %	Amino-N mg・%	Histidine mg・%	AMP mg・%	IMP mg・%
A	175	14.4	6.80	460	2209	126	140
B	200	15.1	9.32	415	2837	101	118
C	180	13.5	7.39	437	1430	55	61
D	210	14.9	8.24	493	2329	108	79
E	205	16.1	11.05	332	2044	150	104
F	210	15.0	9.75	424	3405	101	171

考　　察

上，下各6本について平均値 ($\bar{x}$)，標準偏差 (s)，5% の危険率における母集団 (m)，変動係数 (c) を求め，第3表に示した。

Table 3. The analysis of individual variations.

		Moisture	Crude fat	Amino-N	Histidine	AMP	IMP
Tosa better	$\bar{x}$	15.13	4.14	442	2593	108	391
	s	0.810	0.221	42.82	360.6	14.9	86.1
	m	14.28～19.98	3.91～4.37	397.06～486.94	2214～2972	93～124	301～481
	c	5.35	5.34	7.13	13.91	13.7	22.0
Sanriku lower	$\bar{x}$	14.83	8.76	427	2376	107	112
	s	0.846	1.582	54.69	679.0	31.6	40.1
	m	13.94～15.72	7.10～10.42	369.6～488.4	1663～3089	74～140	70～154
	c	5.71	18.06	9.11	28.58	29.6	35.8
t_0		0.63	7.08**	0.53	0.69	0.10	4.61**

さらに上，下の各成分含量の平均値の差を検討し，結果を t_0 で表わし，同時に第3表に掲げた。この結果では粗脂肪，IMP が両群間に明らかに差があり，上等品に脂肪が少なく，IMP が多いという結果になつた。脂肪の場合は前2回の結果と同じであるが，IMP の場合は予想に反した結果であつた。すなわち今回の IMP の個体変動は予想以上に少なかつたからである。この原因は主として試料の採取法に帰せられるものであろう。

何故ならば，前2回のサンプリングの呼称は同じものであつても採取の時期が1年以上も異なつており，この間に，この度選んだカツオブシの IMP 含有量の個体変動を上廻る変動が入りうる原因があつたのでは

ないかと考えられるのである。しかしながら IMP につき今回えられた結果から，一般に著るしく品質の劣るものは著るしく優れるものより IMP が少ない傾向にある，と判定することにする。脂肪およびアミノ酸組成などに対する結論は，勿論，従前と同じである。

このカツオブシ品質の研究[1]，函館産カレイ類の品質の研究[2]，また今経続中の昆布の品質の研究[3]等から綜合判定すると，食品の品質あるいは味は，美味なる物質の多寡によつて支配されるというよりも，寧ろ不味物質の多少によつて律せられる場合が多いように観察される。それ故，われわれの調味に対する見解はつぎのようである。呈味物質を添加して味の向上を図るのは，ごく狭い分野に限定されていて，寧ろ不味物質をいかにして緩和し，除去するかという点が調理技術の大きな分野を占めている。また，不味物質の本態は呈味物質に較べれば科学的に充分検討されていない。それ故に，われわれは，調理技術の存在を強く是認する立場に立たざるをえない。

結　論

カツオブシの品質を決定するものは脂肪のようであり，脂肪の多いもの程劣るという傾向にある。アミノ酸組成は品質と関係がない。時にはイノシン酸が品質劣るものに少ない傾向にある。

それ故，カツオブシを有効に利用するには，呈味物質を強化するよりも，不味物質の作用をいかにして緩和するかに留意すべきであつて，ここに調理技術の存在を認めるものである。

謝　辞

カツオブシの実験試料を寄贈された高津照五郎氏，また実験を援助された石倉大氏に感謝申上げる。

文　献

1) 大石圭一・田村祐子・村田喜一： 本誌，(1959).
2) 大石圭一： 北大水産学部研究彙報，**9**，171，186，**10**，57 および投稿中 (1958～59).
3) 大石圭一： 北大水産学部研究彙報，**9**，283，299 (1958).

自然水中のビタミン B_{12} に関する研究*—V.

池田湖および甲突川におけるビタミン B_{12} の分布

柏田研一・柿本大壱・金沢昭夫
黒木敏郎・野沢洽治

(1959 年 6 月 29 日受理)

STUDIES ON VITAMIN B_{12} IN NATURAL WATER—V. DISTRIBUTION OF VITAMIN B_{12} IN LAKE IKEDA AND RIVER KŌTSUKI

Ken-ichi KASHIWADA, Daiichi KAKIMOTO, Akio KANAZAWA,
Toshiro KUROKI and Koji NOZAWA**

In the work reported here the vitamin B_{12} content and its variation in lake and river water was measured.

In May 1958, the vitamin B_{12} content in the water of Lake Ikeda, mesured by Euglena method; it was very small (e. g. less than $1\,m\gamma/l$) and no distinct variation in the vertical and horizontal distribution was observed, however, in August, the vitamin increased in content more than twice as much as that of the spring value, the vertical distribution of it showed a close correlation with the quantity of dissolved oxygen and the maximum was shown at the depth of 20m. (Fig. 2) Fish school were also observed in this region. Similar seasonal change in vitamin B_{12} content was found in water from Kōtsuki River, with a low spring level (about $0.1\,m\gamma/l$) (Table 2, I) and a high autumn level ($0.4\sim4.5\,m\gamma/l$) (Table 2, II). And in the river water, high level of vitamin B_{12} was observed in the morning, and in the daytime the vitamin content decreased with the lapse of time. It was found also that considerable amount of vitamin B_{12} poured into the river water from the banksoil with the rain-water. (Table 2, II)

硅藻類その他下等な水棲生物の中には，その生育上 B_{12} を必要とするものが多く存在することが知られており，このことからも海水その他自然水中の B_{12} はそこに生存する生物の生活にとつて直接，間接関係があると考えられるが，これまで自然水中の B_{12} に関する知見は甚だ乏しかつたように思われる。筆者らはさきに海水中の B_{12} 定量法を考案し[1),2)]，さらに定量に関連した事項について行なつた 2, 3 の実験および海水，湖水の B_{12} 分布に関する調査結果を報告してきたが[3),4)]，自然水中の B_{12} については諸外国においても近年漸く関心が高まりつつあり，それも主として海水中のものに関してであるが，定量法に関するもの[5),6)] B_{12} 含量の季節的変化に関するもの[7)] などの報告が見られる。筆者らは目下，海洋生産力と B_{12} との関連性の問題を取上げて研究中であるが，この研究を進めるに当つては，まず自然水中における B_{12} 分布の実態を詳に

* 昭和 33 年 10 月，日本水産学会秋季大会（新潟）において一部発表。本研究は第 4 報までは「海水中のビタミン B_{12} に関する研究」として報告してきたが，今後は海水の外，河水，湖水など広く自然水を対象とした研究も含めるため，表題の「海水」を「自然水」と変えたが，報告番号はそのまま引継ぐこととした。

We have undertaken a study of vitamin B_{12} in sea water a few years ago and four reports were already published by us. With the extension of our work, further studies has been made on the same vitamin in lake and river water in addition to sea water. In these circumstances, the term of "sea water" in the title is turned into "natural water", the numbering of report, however, following consecutively the preceding one.

** 鹿児島大学水産学部 (Fac. Fish., Kagoshima Univ., Kagoshima, Japan).

する必要がある。池田湖の水については先年簡単な調査を行なつたが，その後改めて一般湖沼調査と並行して詳しく調査した結果 2，3 の事項を明らかにすることができた。また河川の B_{12} 分布についてはこれまであまり報告が見られないので，まず手近のところから始める意味で鹿児島市内を流れる甲突川の水について調査したので，その結果も併せてここに報告する。

調査並びに結果

1. 春季および夏季の池田湖における B_{12} 分布

筆者らはさきに池田湖について B_{12} の垂直分布を湖心附近で深度 120m までの水で調べた結果を報告したが[4]，この調査では一般水質との関係については調査しなかつた。よつて今回改めて B_{12} の時季的変化を知るために春季と夏季に，また B_{12} の水平並びに垂直分布を調べるのと並行して一般水質調査，魚探による魚群の分布調査も行ない，B_{12} とこれらとの関連性を探索した。

春季の調査は昭和 33 年 5 月 26, 27 の両日行なつたが，この調査で黒木は魚探による魚群の分布調査を担当し，測温その他水質調査は鹿児島県水産試験場職員が，また B_{12} に関する事項は柏田・柿本・金沢が当つた。Fig. 1 に採水した場所を示し，Table 1 に観測測定の結果を表示した。なお B_{12} はユーグレナ法による測定値である。

まず水の B_{12} 濃度に関する今回の調査成績の特徴は全般的に著るしく稀薄で，すなわち 1 mγ/l にも達しないこと



Fig. 1. A map of Lake Ikeda, showing the station number.

Table 1. Results of observation at Lake Ikeda and remarks on echo-sounder record.

Time	Depth (m)	Water temp. (°C)	Air temp. (°C)	Wind dir.	Vitamin B_{12} (mγ/l)	Ammonia-N (μg/atom/l)	pH	Remarks
Station 1. (May 26, 1958)								
h m 14.40	0	19.20	21.0	W	0.18	1.13	7.55	Dense fish schools were found occasionally at 7.5m.
14.50	5	19.40	21.0	W	0.20	0.63	7.55	
15.00	10	19.19	21.0	W	0.10	0.34	7.70	
15.09	25	12.59	21.0	SW	0.35	0.24	7.60	
15.17	30	11.49	20.0	SW	0.30	0.27	7.55	
15.25	35	11.38	20.2	E	0.60	0.30	7.50	Scattering layer was observed near 33m.
15.34	40	11.22	20.1	E	0.70	0.30	7.50	
15.42	50	11.09	20.1	E	0.30	0.30	7.50	
15.53	75	10.97	20.0	E	0.25	0.24	7.50	
16.18	100	10.85	19.8	E	0.22	0.05	7.50	
16.25	125	10.75	19.0	NNW	0.80	0.05	7.50	
16.38	149	10.91	19.6	SE	0.81	0.05	7.50	
Station 2. (May 26, 1958)								
17.03	0	19.20	20.1	SSW	0.20			
17.08	5	19.28	20.1	SSW	0.70			
17.13	10	18.92	18.9	SSW	0.20			
17.25	15	15.66	18.9	SSW	0.30			
17.33	20	13.22	19.2	SSW	0.38			
17.19	25	12.50	19.2	SSW	0.50			
17.37	30	11.60	18.9	NE	0.21			
17.45	35	11.34	18.8	NE	0.20	Sparse fish schools were found in the layer 50m, and not found near the bottom.		
17.54	40	11.19	18.8	SE	0.15			
18.00	50	11.05	18.8	SE	0.52			
18.08	75	10.93	18.8	SE	0.40			
18.18	100	10.80	18.8	SE	0.20			
18.30	125	10.79	19.1	WNW	0.19			
18.41	149	10.75	19.2	NNW	0.35			

Table 1 (Continued)

Time	Depth (m)	Water temp. (°C)	Air temp. (°C)	Wind dir.	Vitamin B_{12} ($m\gamma/l$)	Remarks
Station 4. (May 27, 1958)						
h m						
9.13	0	19.60	24.4	E	0.10	
9.35	13	19.39	24.4	NE	0.20	
9.45	0	19.45	24.4	NE	0.20	Surface water at the depth 25m.
9.50	25	12.10	24.4	NE	0.50	
9.55	50	11.09	24.4	NNE	0.30	
9.58	0	19.45	24.4	NNE	0.40	Surface water at the depth 50m.
10.06	30	11.79	24.0	NNE	0.30	
10.23	20	13.24	24.0	NNE	0.35	
10.28	0	19.45	24.0	NNE	0.15	Surface water at the depth 20m.
10.32	8	19.63	24.0	NNE	0.15	
10.35	0	19.09	24.0	NNE	0.12	Surface water at the depth 8m.
10.45	4	19.22	24.3	NNE	0.30	
Station 5. (May 27, 1958)						
11.25	0	19.77	24.2	NNE	0.15	Fish schools were found at the surface and near the bottom. The depth is about 100m.
11.27	5	19.41	24.2	NNE	0.25	
11.33	10	19.05	24.2	NE	0.20	
11.40	15	15.74	24.2	NE	0.80	
11.45	20	13.31	24.4	NE	0.20	
11.58	25	11.99	24.4	NE	0.32	
12.08	30	11.75	24.4	NE	0.25	
Station 6. (May 27, 1958)						
14.45	0	20.60	23.9	SE	0.35	Dense fish school near 5〜10m. looks like *Hypomesus dlidus*, and that near 30m. looks like crucian.
14.55	5	19.59	23.9	SE	0.40	
15.00	10	19.00	23.9	SE	0.10	
15.07	15	14.59	23.9	SE	—	
15.13	20	13.32	23.9	SE	0.35	
15.19	25	12.43	23.9	SE	0.75	
15.23	30	11.80	23.9	SE	0.58	
15.30	40	11.22	23.9	SE	0.40	
16.05	35	11.55	23.9	SE	0.20	
Station 7. (May 27, 1958)						
17.05	5	20.46	—	WSW	0.70	
17.09	10	19.05	—	WSW	0.10	
17.13	15	14.88	—	WSW	—	
17.17	20	12.80	—	WSW	—	
17.23	25	12.01	—	WSW	—	
Position 9_1〜9_{10} (May 27, 1958)						
16.10	0	—	—	NW	0.20	Across the lake from south to north-west. Surface water was collected at intervals of 5 minutes.
16.15	0	—	—	NW	0.20	
16.20	0	—	—	NW	0.58	
16.25	0	—	—	NNW	0.00	
16.30	0	—	—	NNW	0.20	
16.35	0	—	—	NNW	0.40	
16.40	0	—	—	NNW	0.15	
16.45	0	—	—	NW	0.20	
16.50	0	—	—	NW	1.50	
16.55	0	—	—	NW	0.70	

である。従来の測定例から見てこれは自然水における B_{12} 濃度としてはかなり低い値であるが，これが池田湖における B_{12} 量の時季的変化の常態であるか否かは今後の調査に俟たなければ断定できない。B_{12} 濃度が低いためかその分布変化もあまり明瞭でなく，一定の傾向も認め難い，また pH，アンモニアなどとの関連性も明らかでない。表中 9_1〜9_{10} で表わしたのは湖上を南端から西北に向つて船を進め，その間表面水をほ

等間隔（5分おき）に10点で採水し，B_{12} の水平分布を調べたものであるが，その結果は 0〜1.5 mγ/l で，両岸から 0.5〜1 km 附近に高濃度の水域が見られた。

ついで夏季の調査は 8 月 19 日から 22 日まで 4 日間にわたつて行なつた。この調査は鹿児島県企画室の企画による西南薩開発計画学術調査の一環として行なつた共同調査で，その結果の一部を取りまとめたものは池田湖調査資料（I）として発表された[8)]。これは前記調査のデータを集録したものであるが，B_{12} に関しこの調査で明らかにされたことは，まずその量が春季よりも全体としてかなり高値を示したことと，その垂直分布に顕著な特徴が認められたことであつた。湖上の 13 点について水の B_{12} 濃度その他の事項を調査した結果，深度 200m 以上の深所でも，また 30m 程度の岸に近い浅所でも垂直分布はきわめて類似していた。一例として採水点 A_2（深度約 200m）と A_1（深度 33m）における B_{12}，水温，pH，溶存酸素の垂直分布を図示し（Fig. 2, I および II），春季における調査成績との比較に資したが，この分布は当時における池田湖の概貌を示しているものと解してよい。まず，B_{12} 濃度は 0〜5.4 mγ/l の範囲にあつたが，このうち濃度 0 を示したのは日中に採取した表面水であるところから見て，表面水においては日光あるいはその他の影響で B_{12} が分解若しくは消費されることが多いのではあるまいか。つぎに注目されるのは B_{12} の最高濃度がいずれの場所においても深度 20m 層に明瞭に認められることであつたが，この B_{12} の垂直分布が溶存酸素のそれときわめて類似していることは，魚群が 20〜30 m 層に多く観察されたこととともにきわめて興味深い。pH の垂直変化もまたこれらと類似しており，水温は典型的な分布曲線を示し，その躍層は 12〜13 m 附近にあつた。燐酸塩，硅酸塩，硝酸塩，アンモニアなどの諸成分と B_{12} との間には特に深い関連性は見られないようであつたのでデータの引用，考察は省略する。（詳細は文献 8 に掲載）

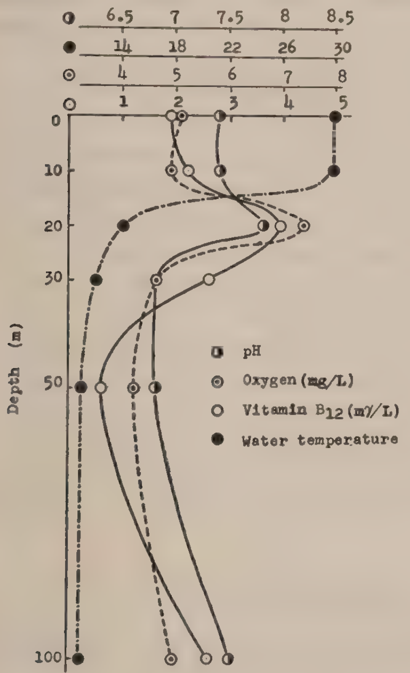


Fig. 2, I.

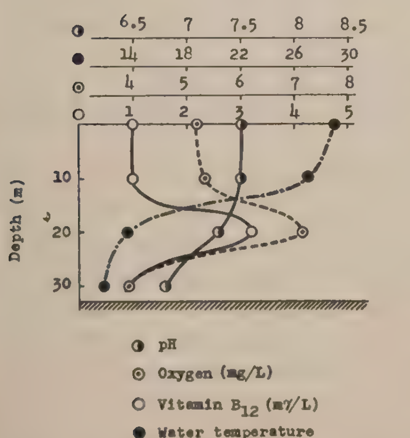


Fig. 2, II. Vertical distribution of vitamin B_{12}, pH, dissolved oxygen and water temperature.

2. 甲突川におけるビタミン B_{12} の分布

前記のごとく自然水中の B_{12} でこれまで問題にされているのは主として海水中のものであり，河水中の B_{12} についての報告はあまり見られないようである。河川は海洋や湖沼とはその性格がかなり異なり，水の移動の遙かに早い場合が多く，地形や流域の状況によつて水質やその汚染の程度などもきわめてまちまちと思われるので，B_{12} 量もかなり変動が大きいのではないかと想像されるが資料に乏しいのでその辺の事情がほとんど判つていない。さらに場合によつては海水の B_{12} の一つの根源となつているかも知れない。そこで

一例として鹿児島市内を貫流している甲突川について B_{12} 量を調査した。この河は河口部を除けば幅 2, 30m 程度で浅いが流れは比較的速い。第1回の調査は昭和 33 年 6 月 15 日の午後行なつた。快晴で採水は河口から約 5km 遡つた所を最上流点とし，それより下流河口までの間に在る9つの主な橋のたもとで行なつた。この最上流採水地点は市の郊外部に当り，人家もあまり稠密ではない。試水は現地で No. 5C 東洋沪紙で沪過してトルオールを添加し，光を避けて実験室に運び，直ちにユーグレナ法によつて B_{12} を定量した。その結果は Table 2, I に示したように，いずれの試水も 0.1 mγ/l の微量にすぎず，河口からの距離，人家の疎密などの条件による変動は認められなかつた。海水より多少とも多いのではあるまいか，人家の疎らな上流より人家の密な市街地になると，B_{12} が増加するのではあるまいかという予想は外れ，海水と変らないことが判つた。

Table 2, I. Regional variation of vitamin B_{12} content in River Kōtsuki. (June 15, 1958)

Locality		B_{12} (mγ/l)	Remarks
Tamae bridge	(玉 江 橋)	0.12	About 5.1 km up the river.
Tsuruo bridge	(鶴 尾 橋)	0.12	〃 4.2 km 〃
Harara bridge	(原 良 橋)	0.10	〃 3.7 km 〃
Sinkan bridge	(新 上 橋)	0.10	〃 3.2 km 〃
Hirata bridge	(平 田 橋)	0.18	〃 3.0 km 〃
Takami bridge	(高 見 橋)	0.13	〃 2.5 km 〃
Kōrai bridge	(高 麗 橋)	0.10	〃 2.0 km 〃
Takeno bridge	(武 之 橋)	0.14	〃 1.3 km 〃
Tempozan bridge	(天保山橋)	0.14	〃 0.5 km 〃
Sea		0.14	Near the outfall

River water was collected at the foot of the main bridge in Kagoshima city.

第2回目は 10 月 15 日に行なつたが，この調査では採水場所を新上橋のたもと（河口から約 3km 上流で人家はかなり稠密）とし，ここで時刻による変化を調べた。当日始めの間は大体曇天であつたが 10 時頃から正午にかけてやや強い降雨があり，その後は弱い雨が続いた。採水は5時 30 分から始め，14 時 30 分までの間に4回行なつた。B_{12} 定量の結果は Table 2, II の通りであつた。

Table 2, II. Diurnal variation of vitamin B_{12} content in River Kōtsuki. (Oct. 15, 1958)

Time	Weather	Sample water	B_{12} (mγ/l)	B_{12} in stored water*
5.30 A.M.	Cloudy	Clear	2.7	2.7
7.30 〃	〃	〃	1.2	1.5
9.30 〃	〃	〃	0.4	0.7
2.30 P.M.	Rainy	Muddy	4.5	0.7

Remarks: It began to rain at about 10.00 A.M.
* The river water collected at 5.30 A.M., was stored out of doors in polyethylene sack.

この調査によると B_{12} 濃度は春季よりも増加しており，またそれが時刻によつて，かなり変動すること，雨水の影響があることなどが判つた。日出前の早朝の水では 2.7 mγ/l の B_{12} を含んでいたが，日出後時刻の経過するにつれて比較的急速に減少している。10 時頃からの降雨によつて河水は著るしく濁つてきたが，14 時 30 分に採つたこの濁水では 4.5 mγ/l と明らかに増加した。これは陸上を洗つた雨水によつて相当量の B_{12} が河に流れ込んだことを示すものと考えられる。なお最初に採つた水を別にポリエチレンの袋に入れて屋外に放置した場合の B_{12} の変化は表の右端欄に示したように，時刻のたつにつれて減少した。その減少の経過は河水中のそれとほとんど等しいことから見て，河水の B_{12} が時刻の移るにつれて減少して来るのは，日光による B_{12} の分解に一部あるいは大部分の原因があるのではあるまいか。もつとも B_{12} の減少が日光にのみよるものか，その外の原因，例えばバクテリヤなどもこれに関与しているかどうかを確かめるためには今後の実験が必要である。

池田湖の水では春季に B_{12} が著るしく低濃度であつたが，甲突川の水においてもまた同様であつた。COWEY[7] はノールウェー近海の海水の B_{12} 量は6月に最低値を示すことを報告しているが，湖水や河水で

も春季に B_{12} が低濃度を示すものであれば自然水に共通した現象ということができよう。

摘　　要

池田湖の水についてビタミン B_{12} 量の季節による変化，B_{12} 量と一般水質，魚群分布との関係などを知るため春季と夏季に調査した。また河水の B_{12} については従来ほとんど知られていないので鹿児島市内を流れる甲突川について調査した。それによつてつぎのことが判つた。

1)　昭和 33 年 5 月の調査によると池田湖における B_{12} はきわめて稀薄で $1\,\mathrm{m}\gamma/l$ に達せず，垂直分布に明瞭な傾向は認められなかつた。(Table 1)

2)　8 月の調査では B_{12} 量は春季に較べて全般的に高まつており，深度 20 m にきわめて明瞭な最高値層が認められた。この B_{12} の垂直分布は溶存酸素量のそれとほとんど一致し，魚群もまたこの 20 m 層附近に多いというきわめて興味ある結果がえられた。(Fig. 2)

3)　甲突川の水は 6 月の調査では B_{12} は著るしく稀薄で約 $0.1\,\mathrm{m}\gamma/l$ にすぎなかつたが，10 月の調査ではやや増加していた。時刻的には早朝の水に B_{12} が多く，日出後は減少して行つた。降雨によつて河水が濁ると B_{12} の増加が見られたが，これは雨水によつて陸上から流れ込んだものと思われた。

本研究は昭和 33 年度農林漁業試験研究費補助金による成果の一部である。池田湖の調査に際しては，地元指宿市産業課の協力を得，観測，調査の実施に当つては鹿児島県水産試験場小松光男氏および本学部中山博，国崎敏広氏，また甲突川の B_{12} 調査は製造学科学生大浜用吉君の協力に負うところが多かつた。池田湖の綜合調査を企画され，これへの参加を許された本学部村山三郎教授を始め協力者各位，関係諸機関の当局者に深謝の意を表する。

文　　献

1)　柏田研一・柿本大壱・金沢昭夫：　鹿大水産学部紀要，**5**，146～152 (1956)
2)　柏田研一・柿本大壱・盛田友弌・金沢昭夫・川越一徳：　本誌，**22**，637～640 (1957).
3)　柏田研一・柿本大壱・川越一徳：　本誌，**23**，450～453 (1957).
4)　柏田研一・柿本大壱・金沢昭夫・川越一徳・久保素子：　本誌，**24**，591～594 (1958)
5)　L. Provasoli and I. J. Pintner:　*Proc. Soc. Protozoologists*, **4**, 10 (1953).
6)　M. R. Droop:　*J. Mar. biol. Ass. U. K.*, **34**, 435～440 (1955).
7)　C. B. Cowey:　*Ibid.*, **35**, 609～620 (1956).
8)　鹿大水産学部紀要，**7**，199～205 (1959).

水産動物筋肉エキスのアミノ酸組成—II.

貝肉の遊離アミノ酸とその腐敗による消長

伊 藤 啓 二

(1959 年 7 月 8 日受理)

AMINO ACID COMPOSITION OF THE MUSCLE EXTRACTS OF AQUATIC ANIMALS—II.

THE AMOUNTS OF FREE AMINO ACIDS IN THE MUSCLE OF SHELLFISHES AND THEIR VARIATION DURING SPOILAGE

Keiji ITO*

In the present work, the contents of 17 amino acids in the muscles of three kinds of shellfishes, the clam (*Meretrix meretrix lusoria*), the little neck clam, (*Tapes japonica*) and the soft-shelled clam (*Mya japonica*), and their variation during spoilage were determined by the microbiological method. For the purpose of comparison, the same determination was made on the muscle of the mullet (*Liza haematocheila*).

The results (Table 1~3) are summarized as follows:

(1) The recovered amino acid nitrogen accounted for about 52~63% of the extractive nitrogen in the shellfishes, and about 29% in *Liza haematocheila*.

(2) The main components of the free amino acids were alanine, glycine, arginine and glutamic acid in the muscle of three shellfishes, and glycine, histidine and alanine in the case of *Liza haematocheila*.

(3) As the shellfish muscle spoiled, the amount of free arginine falled rapidly and glutamic acid decreased in some measure. Other amino acids increased slightly, but the change was not considerable.

(4) As the muscle of *Liza haematocheila* spoiled, it was seen that glycine, serine, proline and basic amino acids decreased to some extent.

前報[1]において，数種魚肉エキスのアミノ酸組成について報告したが，今回は貝肉についても，アサリ，ハマグリ，オオノガイの 3 種の筋肉中の遊離アミノ酸量を測定し，特に腐敗の進行にともなう各アミノ酸の消長を追究したので，その結果を報告する。貝肉中の遊離アミノ酸については最近土屋[2]の綜説がある外，田村ら[3]のアサリ，シジミ，ハマグリ，バカガイについて 12 種のアミノ酸量を測定した報告が見られるが，その鮮度低下の際の変化に関しては清水ら[4]がアミノ態窒素分布の変動を見た以外にあまり報告はないようである。

一般に貝肉の腐敗は炭水化物含量が多いため酸性側に傾くもので，魚肉の場合とは明らかにその様相を異にする。その遊離アミ酸の消長においても，なんらかの差異があるものと考え，比較のためにメナダ肉の腐敗についても実験を行なつた。

実 験 方 法

試料および試料の調製 試料は 1958 年 6 月に福山市箕島海岸で採集したハマグリ，アサリ，オオノガイをいづれも採集後 10°C に一夜放置し，翌日開殻処理を行なつた。また，対照としたメナダは本学養魚池

* 広島大学水畜産学部 (Fac. Fish. and Ani. Hus., Hiroshima Univ., Fukuyama, Japan).

で 1958 年 11 月に捕獲した体重 600～700 g のもの 2 尾を用い，実験直前に刺殺した。両者とも内臓を除き，筋肉部を鋏で充分細切した後，共栓瓶に入れ，15～20°C の室温に放置し，所定時間経過後それぞれ 30 g を秤量，ホモゲナイズして，30 cc の蒸溜水を加え，80°C の温浴に 5 分間加熱する。放冷後タングステン酸ソーダ除蛋白剤[5] 40 cc を加えて，よく攪拌して沈澱を作らせ，ついで 150 cc に定容として，その沪液について分析を行なつた。

アミノ酸の定量　前報[1] と同様 microbioassay 法によつた。使用菌も前報と同一である。

結果および考察

まづ実験に使用した 3 種の貝鮮肉の窒素分布を Table 1 に示した。これによるとエキス全窒素の総窒素量に対する割合はハマグリ，アサリ，オオノガイの順に大きく 25% 前後となつて，一般の魚肉が 10～20%[6)7)] を占めることと比較すればかなり高い比率である。

Table 2 にこれら貝肉の鮮度低下の進行にともなう遊離アミノ酸の変動を，Table 3 にメナダ肉についての同様の分析値を示した。まず貝肉の新鮮時における遊離アミノ酸についてみると，glycine, alanine glu-

Table 1. Distribution of nitrogen in the muscle of shellfishes and *Liza haematocheila*

	Crude Prot.–N (A)	Ext.–N (B)	Total of Amino Acid–N dete.* (C)	B/A	C/B
(Hamaguri) *Meretrix meretrix lusoria*	1580 mg·%	438 mg·%	241 mg·%	27.7%	55.1%
(Asari) *Tapes japonica*	1830	448	231	24.5	51.6
(Ono gai) *Mya japonica*	2390	563	352	23.6	62.5
(Menada) *Liza haematocheila*	—	272	79	—	29.0

* Calculated from Table 2.

Table 2. Change in the free amino acids contents in shellfish muscle during spoilage (15～20°C)

Amino Acids \ Stowage Days	*Meretrix meretrix lusoria* 0	2	4	*Tapes japonica* 0	2	4	*Mya japonica* 0	2	4
	mg·%	mg·%	mg·%	mg·%	mg·%	mg·%	mg·%	mg·%	mg·%
Glycine	265	243	240	530	483	470	797	823	930
Alanine	573	660	705	220	198	237	517	618	609
Valine	32	35	37	18	17	35	21	27	33
Leucine	40	41	49	18	18	37	17	26	35
Isoleucine	14	16	25	9.8	9.6	22	10	14	24
Serine	21	15	18	20	15	24	33	25	27
Threonine	44	35	35	29	24	39	37	45	53
Methionine	22	28	14	15	14	10	12	19	11
Aspartic ocid	32	40	35	48	51	46	22	14	17
Glutamic acid	249	245	214	233	210	218	185	173	100
Tyrosine	25	23	19	15	12	—	9.3	17	13
Phenylalanine	16	17	27	9.7	8.5	22	6.5	12	17
Proline	17	13	13	12	9.0	22	11	19	14
Tryptophan	4.5	6.0	7.5	2.5	2.6	4.0	1.9	3.8	4.4
Arginine	163	124	66	153	97	46	242	143	37
Lysine	16	7.6	14	23	14	36	9.5	7.9	16
Histidine	7.9	9.8	12	6.9	5.7	10	9.0	12	14
Volatile basic–N	5.4	35.9	84.1	6.8	30.4	40.7	7.4	23.1	43.4
Extractive–N	438	467	492	448	467	484	563	577	598

tamic acid, arginine が大部分を占めることは3者とも変りはなく，ただハマグリとアサリとでは glycine と alanine 含量が逆になつている点，およびオオノガイにおいては glycine, alanine ともに高値を示している点が大きな相違である。また，土屋[2] はカキの proline 含量を 80 mg·% と報告しているが，ここに分析した貝類ではいづれも小さい値であつた。なお，これら測定された 17 種のアミノ酸に由来する窒素量は総エキス窒素の 50～60% (Table 1) を占め，同じ軟体動物であるイカ肉で 25%[1)8)] 程度であるのにくらべはるかに多いものである。

Table 3. Change in the free amino acid contents in the muscle of *Liza haematocheila* during spoilage (15～20°C)

Amino Acids \ Stowage Days	0	1	2	3
	mg·%	mg·%	mg·%	mg·%
Glycine	208	252	201	169
Alanine	50	51	60	58
Valine	11	12	16	31
Leucine	14	12	15	31
Isoleucine	9.8	8.2	7.5	11
Serine	2.5	2.9	1.6	1.4
Threonine	12	—	—	—
Methionine	3.8	3.6	4.4	4.2
Aspartic acid	0	21	7.5	4.8
Glutamic acid	8.3	8.1	8.0	31
Tyrosine	5.0	5.1	6.0	9.9
Phenylalanine	3.9	3.8	5.3	9.8
Proline	11	11	7.3	3.7
Tryptophan	1.1	1.1	0.9	13
Arginine	3.6	3.8	1.7	2.3
Lysine	19	11	7.3	3.7
Histidine	56	51	47	33
Volatile basic-N	7.2	11.1	25.0	59.4
Extractive-N	272	284	312	329

つぎに鮮度低下におけるアミノ酸の変化についてみると，貝肉，魚肉ともその進行するにしたがい，2, 3 のものを除いてはいづれも増加の傾向をたどるようである。減少するものとしては，貝肉においては arginine および glutamic acid であつて，特に arginine は3者とも著しく減少し，glutamic acid はオオノガイにおいて明瞭であつた。メナダ肉の場合には glycine, serine, proline および塩基性アミノ酸が減少し，特に histidine にのみ貝肉の arginie と同じような傾向が見られた。glutamic acid は3日目には明らかに増加し，貝肉の場合とは異なつていた。清水ら[4] によると貝肉は低温貯蔵中モノアミノ酸が減少し，ヂアミノ酸が増加するとしているが，本実験におけるごとき腐敗過程では特にこれらの傾向を認めることはできなかつた。

要　　約

1) アサリ，ハマグリ，オオノガイの3種について，その筋肉中の遊離アミノ酸量を測定し，かつ，その腐敗初期における消長を調べ，メナダ肉の場合と比較した。

2) 測定した 17 種のアミノ酸窒素はこれら貝肉ではエキス窒素の 52～63% を，メナダ肉では 29% を占めた。

3) 貝肉中の遊離アミノ酸は alanine, glutamic acid および arginine が大部分を占め，メナダ肉においては glycine, histidine および alanine が主要なアミノ酸であつた。

4) 貝肉中の arginine は鮮度低下に伴い，急速に減少し，glutamic acid も減少する。その他のアミノ酸はやや増加の傾向を示すが，大きな変化はなかつた。

5) メナダ肉では glycine, serine, proline および塩基性アミノ酸に減少が見られた。

文　　献

1) 伊藤啓二: 本誌, **23**, 497 (1957).
2) 土屋靖彦: 昭和 32 年日本水産学会秋季大会シンポジウムテキスト, p. 40 (函館).
3) 田村盈之輔, 他: 国立栄養研究所報告, 28 (1956).
4) 清水　亘, 他: 本誌, **19**, 871 (1953).
5) SCHURR P.E. *et al*: *J. Biol. Chem.* **182**, 29 (1950).
6) SCHEWAN J.M.: *Biochemical Society Symposia* **6**, 28 (1951).
7) 清水　亘: 昭和 32 年日本水産学会秋季大会シンポジウムテキスト, p. 61 (函館).
8) 鴻巣章二, 他: 本誌, **23**, 561 (1958).

アサクサノリの生化学的研究—I.

窒素源添加培養による窒素成分の変化

佐藤孜郎・佐藤美和・伊藤啓二・松本文夫

(1959 年 7 月 8 日受理)

BIOCHEMICAL STUDIES ON THE EDIBLE SEAWEED, *Porphyra Tenera*—I.

CONTENTS OF VARIOUS NITROGENOUS COMPONENTS IN THE FROND AS AFFECTED BY THE TYPE OF THE NITROGEN SOURCE

Shiro SATO, Yoshikazu SATO, Keiji ITO and Fumio MATSUMOTO*

Porphyra tenera was cultured for a period of 1 to 6 days in the media containing NH_4Cl, NH_4NO_3, urea or $NaNO_3$ as the nitrogen source (0.01% as N), and the changes in the amounts of the total nitrogen, extractive nitrogen and extractive amino acids (alanine, aspartic acid and glutamic acid) in the frond were determined.

The results are shown in Tables 1 and 2, and are summarized as follows:

(1) With NH_4-salts as the nitrogen source, the total-N, ext.-N and alanine increased very rapidly, and 20 to 30% of the increment of ext.-N was accounted for by alanine. The increase of aspartic and glutamic acids was not so marked as that of alanine.

(2) With urea, the absorption of nitrogen was slow for the first 4 days, turned to be very rapid thereafter, and almost the same amount of nitrogen was absorbed in 6 days as in the case when NH_4NO_3 was used as the nitrogen source. It is noted, however, that the glutamic acid content increased markedly during the first 2 days.

(3) With $NaNO_3$, the total-N content did not increase so rapidly as with NH_4-salts, but there was considerable increase in the contents of the three amino acids.

(4) It seems that in *Porphyra tenera* the amount of extractive alanine is more easily affected by the nitrogen condition of the environmental sea water than that of aspartic or glutamic acid.

アサクサノリの含窒素栄養塩の吸収はきわめて速やかであつて，窒素源を添加した海水中にノリを浸漬培養する時は急速に窒素含量が増加し，品質の改善が行われるという[1)2)]。このようにして窒素源の吸収が行われた場合にノリの窒素成分に如何なる変化をもたらすかを測定することは，アサクサノリの窒素吸収機構の一端の解明に重要な意義をもつものと考え本研究を行つた。

窒素成分としては全窒素，エキス窒素，および遊離アミノ酸のうちの alanine, aspartic acid, glutamic acid の3種の定量を行つた。これらのアミノ酸を選んだ理由はアサクサノリの遊離アミノ酸中，季節的にも，また環境的にもこれらが最も大きく変動を示す[3)]ものであり，かつ窒素代謝においても中心的役割をなしているものと考えたからである。

実験方法

(1) 試料および培養方法

実験は 1959 年1月より 3 月上旬にわたる期間に行つたもので，試料ノリはいづれも実験開始の当日福山

* 広島大学水畜産学部 (Fac. Fish., and Ani. Hus., Hiroshima Univ., Fukuyama, Japan).

市箕島漁場で養殖試験中の正常に生育したものを用い，つぎのように培養した。すなわち，その約 350 g を実験区分に従い，それぞれ 30 l 容の樽に入れ，これに満潮時同所で採水沪過し，所定の窒素源（NH_4Cl, NH_4NO_3, 尿素および $NaNO_3$）をNとして 0.01% になるごとく添加した海水 20 l を満たし，葉体の受光が一様となるよう注意しながら，上下運動式攪拌を行つた。光線照射は上記装置を戸外におき自然光線によることとし，換水は行わなかつた。そして所定時間後，約 100 g づつ取りだし，常法に従い水洗，風乾し，これをデシケーター中に保存して分析に用いた。

(2) 定 量 方 法

全窒素は上記乾燥試料について micro-Kjieldahl 常法により分析し，エキス窒素および遊離アミノ酸の定量は次のように行つた。すなわち，試料はできる限り細切し，80°C 1時間乾燥した後，正確に 1 g を秤取し，70% アルコール 50 cc と石英砂を加えて乳鉢で十分磨砕後三角フラスコに移し，15 分間 80°C で温浸した。冷却後，遠心分離の操作を 3 回繰り返し，抽出液を合して減圧濃縮を行つた。これを蒸溜水にて 50 cc 定容フラスコに移し，冷蔵庫中に保存してエキス窒素およびアミノ酸の定量に供した（この方法では多少の Chlorophyll の混入は避けられないが，別に検討したところによるとアミノ酸の定量には影響がなかつた）。アミノ酸の定量は microbioassay 法によつた。すなわち，alanine は *Leuconostoc citrovorum* 8081, aspartic acid は *Leuc. mesenteroides* P–60, glutamic acid は *Lactobacillus arabinosus* 17–5 を用いた。

Table 1. Total–N, ext.–N, alanine, aspartic acid and glutamic acid contents of *Porphyra tenera* cultured with different nitrogen sources. (Culture period: 6 days)

N-source added	Duration of Culture (Days)		0	2	4	6
Control	Total–N	%	4.55	4.50	4.41	4.20
	Ext.–N	mg%	540	510	510	490
	Alanine	〃	311	365	338	164
	Aspartic acid	〃	200	55	118	54
	Glutamic acid	〃	293	500	360	130
NH_4Cl	Total–N	%		5.81	5.79	5.82
	Ext.–N	mg%		1290	1770	1200
	Alanine	〃		1400	2400	1940
	Aspartic acid	〃		94	126	122
	Glutamic acid	〃		393	613	487
NH_4NO_3	Total–N	%		6.16	6.13	6.87
	Ext.–N	mg%		1400	1770	1870
	Alanine	〃		1390	2240	3060
	Aspartic acid	〃		150	241	180
	Glutamic acid	〃		572	570	633
Urea	Total–N	%		5.04	5.39	7.70
	Ext.–N	mg%		780	880	2000
	Alanine	〃		1270	1690	3090
	Aspartic acid	〃		159	221	240
	Glutamic acid	〃		1205	555	607
$NaNO_3$	Total–N	%		5.18	5.39	5.95
	Ext.–N	mg%		710	630	730
	Alanine	〃		872	1230	1453
	Aspartic acid	〃		262	240	313
	Glutamic acid	〃		1035	495	585

実 験 結 果

(1) 添加窒素源による差異

添加窒素源として NH_4Cl, NH_4NO_3, 尿素，および $NaNO_3$ を用いた場合の窒素成分の変化を Table 1 に示した。本実験は 7 日間（1 月 10 日～16 日）の培養であつて，肉眼的には 4 日目まではいづれもほとんど変化が認められず，6 日目に至つて窒素源を添加したもので多少黒味の増加が認められた程度であつた。しかし，これを窒素成分の変化についてみると，それぞれかなり顕著な特長的傾向を示している。すなわち測定結果を図示した Fig. 1～Fig. 5 に明らかである。

まず Total–N (Fig. 1) についてみると対照のものは日が終るにしたがい徐々に減少するが，窒素源を加えたものはいづれも増加し，NH_4Cl 区，NH_4NO_3 区では 2 日間ですでに 1.5% 近い増加を示し，NH_4NO_3 区ではその後もなおその傾向をつづける。尿素区および $NaNO_3$ 区では前二者に比べれば緩やかではあるが同様に増加し，尿素区においては 4 日目以降に急激に前二者以上となつた。このような傾向はエキス–N (Fig. 2) の増加についてもみられるもので 4 日目までは NH_4Cl, NH_4NO_3 区において著しく増加し，尿素区では 4 日以後に急上昇している。しかし $NaNO_3$ 区では 6 日目に至つてもわずかな増加が認められたにすぎない。

次にアミノ酸組成についてみるに，alanine (Fig. 3) では NH_4Cl 区を除く他の3者は6日目までほとんど直線的に増加し，特に尿素および NH_4NO_3 区ではその量 3000 mg%以上にも達し，実に増加エキス-N の約 30% が alanine として現れたことになる。これに対し NH_4Cl 区では4日目に 2400 mg%までに達したが以後減少した。一方 $NaNO_3$ 区の増加は他の3者に比べれば少いものの，しかしエキス-N の増加量から見れば，2日目で約 50%，4日，6日目ではそのほとんどが alanine で占められている。

aspartic acid (Fig. 4) では含量の変動が著しく，窒素源添加による影響以外に培養条件，その他の原因による増減が大きいようであるが，$NaNO_3$ 区の

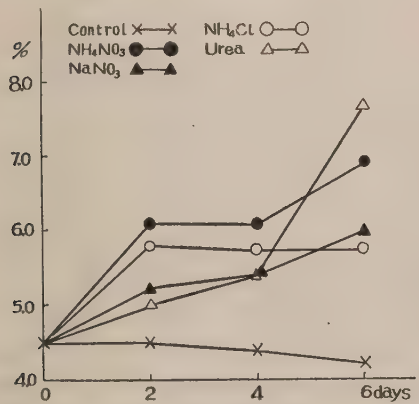


Fig. 1. Total-N in %

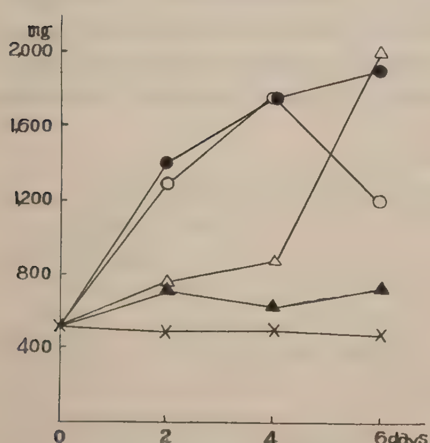


Fig. 2. Ext.-N in mg %

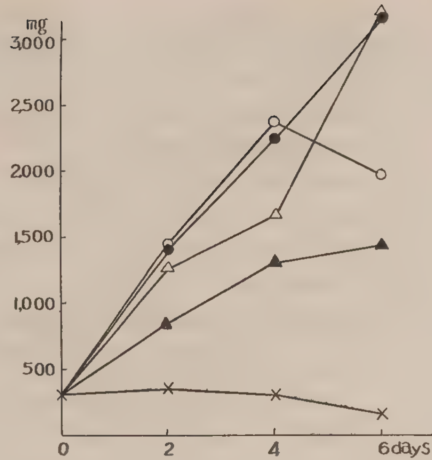


Fig. 3. Extractive alanine in mg %

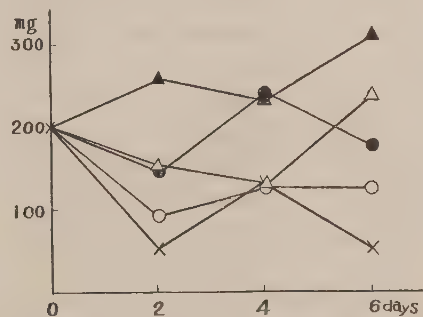


Fig. 4. Extractive aspartic acid in mg %

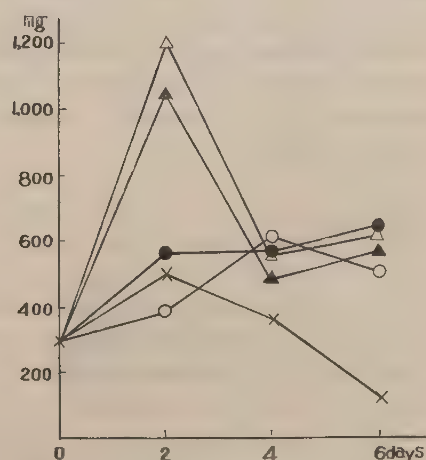


Fig. 5. Extractive glutamic acid in mg %

みが，明瞭に増加の傾向を示していることは興味深い。

glutamic acid (Fig. 5) の場合は，2日目までは対照区をも含めていづれも増加し，特に $NaNO_3$ および尿素区では 1000～1200 mg% にも達している。しかし4日目に至ると窒素源添加の4者とも 500～600 mg% とほぼ一定の値を示し，一方対照区は急速に含量が低下している。

（2） NH_4Cl 添加後 48 時間の変化

（1）の実験において NH_4 塩を窒素源として用いた場合はその窒素の吸収がきわめて急速であることを認めたので，NH_4Cl について培養 48 時間内における変化をたどつてみた。同時に比較として $NaNO_3$ についても行つた。それらの結果が Table 2 および Fig. 6～10 である。本実験は2月 24 日の 7.30 a.m. より 26 日の同時刻まで行つたものである。

Table 2. Total-N, ext.-N, alanine, aspartic acid and glutamic acid contents of *Porphyra tenera* cultured with different nitrogen sources. (Culture period: 48 hours)

N-source added	Duration of Culture (Hours)		0	3	6	10	24	48
Control	Total-N	%	5.40		5.06		5.35	5.53
	Ext.-N	mg%	607		697		740	740
	Alanine	〃	858		1165		1075	1000
	Aspartic acid	〃	185		149		168	197
	Glutamic acid	〃	594		608		690	754
NH_4Cl	Total-N	%		5.83	6.55	7.29	7.21	7.11
	Ext.-N	mg%		1010	1460	2120	2390	2120
	Alanine	〃		1011	1835	2550	3200	3120
	Aspartic acid	〃		136	227	306	217	315
	Glutamic acid	〃		392	360	339	429	834
$NaNO_3$	Total-N	%		5.28	5.42	5.45	5.49	5.49
	Ext.-N	mg%		668	725	740	811	811
	Alanine	〃		924	1022	850	1055	1060
	Aspartic acid	〃		220	236	214	216	256
	Glutamic acid	〃		487	589	535	719	920

Total-N 量 (Fig. 6) についてみると NH_4Cl 区では浸漬後ほぼ 10 時間で最高に達しているが，その増加量はほとんどエキス-N の増加として現われている (Fig. 7)。そしてこれが alanine 量の急増として現われることは前回の実験と同様であるが (Fig. 8)，ただ最高に達する時期は Total-N の場合よりやや遅れるようである。aspartic acid がかなりの変動を示していることも前実験と同様の様相であるが，この場合には僅かに増加の傾向がよみとれた (Fig. 9)。これに対し glutamic acid (Fig. 10) は浸漬後急速に減少し，当初 600 mg% のものが 10 時間後には 340 mg% と半量近くになつたが，その後は増加して 48 時間後には対照区を上廻る量となつている。

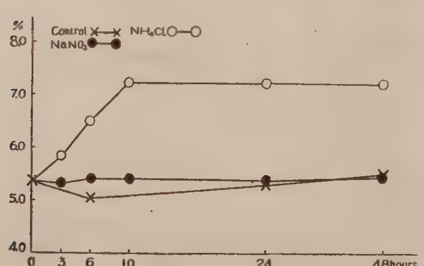


Fig. 6. Total-N in %

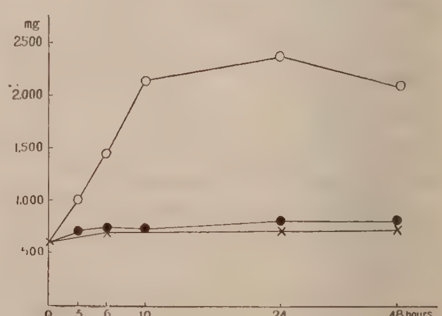


Fig. 7. Exu.-N in mg %

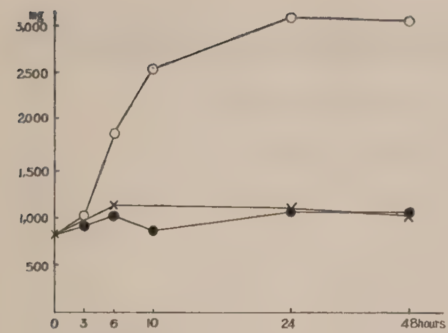


Fig. 8. Extractive alanine in mg %

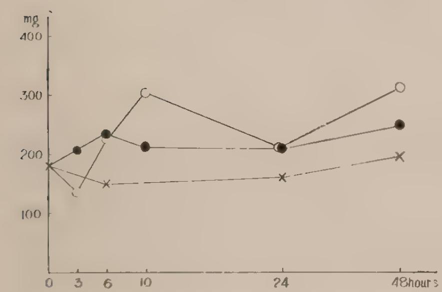


Fig. 9. Extractive aspartic acid in mg %

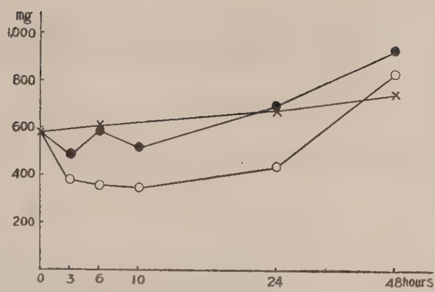


Fig. 10. Extractive glutamic acid in mg %

$NaNO_3$ 区ではこの期間内においては添加の影響はあまり明瞭にあらわれていない。

考　　察

以上の実験結果によると NH_4 塩を用いた場合，ノリ葉体のN吸収はきわめて速やかであり，吸収されたNの相当量が，alanine に合成されるものとみられる。しかし，NH_4Cl と NH_4NO_3 の比較によると，前者では4日目にすでに Total-N，エキス-N，alanine がいずれも最高に達するに反し，後者では6日目までなお増加をつづけている。尿素の場合にはその吸収は当初 NH_4 塩程急激でないにもかかわらず，6日目に至つていづれをも凌駕する状態を示し，また glutamic acid の増加には明らかに NH_4 塩と違つた好影響を与えている。$NaNO_3$ の利用は最も遅く，（2）の実験において 48 時間内にはほとんどその影響がなかつたことから，硝酸還元能力の季節的な異同も併せ考えねばならぬが，比較的徐々に吸収されるものであり，しかも他の三者に比べエキス-N の増加として現われること少く，aspartic acid, glutamic acid の増加にはやや好影響を与えている。これらの事実はノリの培養実験に際し，窒素源として硝酸塩が推奨される[4] こととなんらかの関連あるものと思われる。

aspartic acid, glutamic acid の含量がいづれの場合にもはげしく変動することは窒素源添加以外の他の要因による影響が大きいようであり，また alanine 以外のエキス-N の増加が如何なる状態の窒素成分によるものかについては今後検討を続ける予定である。

要　　約

（1） アサクサノリを NH_4Cl, NH_4NO_3, 尿素および $NaNO_3$ を添加した（N として 0.01%）海水中にそれぞれ浸漬培養した場合の Total-N, エキス-N, 遊離 alanine, aspartic acid, glutamic acid 含量に現われた変化を測定した。

（2） NH_4 塩では Total-N, エキス-N および alanine の増加はきわめて急速でかつ著しく，増加エキス-N の 20〜30% が alanine として示されるが，aspartic acid, glutamic acid はそれほど増加しなかつた。

（3） 尿素の窒素は4日目までは遅かつたが，6日目には NH_4 塩同様よく吸収され，かつ glutamic acid の増加にも好影響を与えた。

（4） $NaNO_3$ では NH_4 塩程急速ではないが，alanine, aspartic acid, glutamic acid のいづれをも増加せしめた。

（5） 藻体中の遊離 alanine 含量は培養海水中の窒素含量の如何により甚だしく影響を受けるようであるが，aspartic acid，glutamic acid 含量は窒素以外の他の要因により左右されることも大きいようである。

終りに本研究費の一部は文部省科学研究費によつたものであることを附記する。

文　　献

1) 佐野　孝： 東北海区水研報告，No. **4**, 246 (1955).
2) 佐野　孝： 東北海区水研報告，No. **5**, 56 (1955).
3) 土屋靖彦・佐々木劭： 本誌，**23**, 230 (1957),
4) 富士川瀏，他： 朝鮮水試報告，101 (1932).

飲食品の汚染指標としての腸球菌に関する研究—III.
腸球菌の栄養要求とその菌型分類との関係

堀 江 進

(1959 年 7 月 20 日受理)

STUDIES ON ENTEROCOCCI AS POLLUTION INDICES OF FOOD AND DRINK—III.
RELATIONSHIP BETWEEN THE NUTRITIONAL REQUIREMENT AND THE SUBDIVISION OF ENTEROCOCCUS GROUP

Susumu HORIE*

Nonhemolytic strains of enterococcus group, as reported in the preceding paper, were divided into three distinct types on the basis of the fermentation test. This study was undertaken to know the difference in nutritional requirements by three types of enterococci.

It has been shown that all strains tested, representing the three types, required three kinds of vitamins, pantothenic acid, nicotinic acid and biotin, and nine amino acids, glutamic acid, arginine, histidine, isoleucine, leucine, methionine, valine, tryptophane and glycine. However, marked differences in the requirements of riboflavin, folic acid and threonine were observed among three types of enterococci. The type I organisms require both riboflavin and threonine, while the absence of folic acid in the medium suppresses the growth of this type. The type II organisms require folic acid and threonine, but not riboflavin. On the contrary, the type III organisms require riboflavin, but not folic acid and threonine.

緒　　言

腸球菌の栄養要求に関しては，従来かなり研究されており，現在本菌は栄養要求の厳しい菌種の一つとして知られている。SCHUMAN 等[1]は始めて *Streptococcus faecalis* の合成培地を発表したが，本培地はビタミンとして，パントテン酸，ビタミン B_6 およびリボフラビンの 3 種を，アミノ酸として，アルギニン，グルタミン酸，メチオニン，トリプトファン，チロジンおよびバリンの 6 種を含有するに過ぎないにもかかわらず，*Str. faecalis* が本培地に発育し得たと報告されている。その後 NIVEN 等[2]は腸球菌の各 species に属する 19 菌株のビタミンおよびアミノ酸要求について研究した結果，全菌株ともにパントテン酸，ニコチン酸，ピリドキシンおよびビオチンを要求し，また 17 菌株はリボフラビンを，7 菌株は葉酸を要求することを明らかにし，また *Str. zymogenes* の 1 菌株が速やかに，かつ充分に発育するためには，13 種のアミノ酸（アラニン，バリン，ロイシン，イソロイシン，セリン，スレオニン，メチオニン，チロジン，グルタミン酸，アルギニン，リジン，ヒスチジンおよびトリプトファン）を要求することを観察したが，栄養要求と腸球菌の species との間に有意義な関係を見出だしえなかつたと述べている。DUNN 等[3]および SHANKMAN 等[4]は lactic acid bacteria の 23 菌株について，その栄養要求を観察したが，この中に *Str. faecalis* R (*Str. faecalis* ATCC 8043) の 1 株が加えられている。彼等の観察によれば，*Str. faecalis* R は前記 13 種のアミノ酸の中，セリンを除いた 12 種を必須とし，またビタミン類については，ピリドキシンを要求しない点で，NIVEN 等の所見と一致していない。NIVEN 等[2]はプリンおよびピリジン塩基の存在が

---

* 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish., Minato-ku, Tokyo, Japan).

腸球菌の発育を促進することを認めているが，HOFFMANN 等[5]は *Str. faecalis* の1菌株のプリンおよびピリミジン要求について研究し，プリン塩基類は単独では発育を促進しないが，ウリジンが共存する場合には，発育を促進することを認めている。また SHOCKMAN[6] は *Str. faecalis* が好気的条件で醋酸塩を要求し，さらに lipoic acid とサイアミンの共存する場合には醋酸塩を要求しないことを見出だしている。従来の研究によつて，腸球菌が数種のビタミンと 10 数種のアミノ酸を発育上要求することは，ほぼ明らかにされたが，これらの研究は腸球菌の特定の菌株，または比較的少数の菌株を取扱つているに過ぎず，本菌の栄養要求と分類との関係についての本格的な検討は未だ行なわれていない。前述のごとく，NIVEN 等は 19 菌株についての所見から，Bergey's manual に記載された各 species の間に，有意義な栄養要求における差異を見出だしていない。

著者は前報[7]に報告したごとく，腸球菌を糖類分解能に基ずいて3種の菌型 (type) に分類したが，本研究においては，これらの各 type に属する菌株について，栄養要求を検討したところ，腸球菌の type と栄養要求との間に，興味ある関係の存在することを見出だしたので報告する。

実 験 方 法

1. 試 薬

使用したアミノ酸，ビタミン，プリンおよびピリミジン塩基は下記の通りである。

dl-アラニン，dl-アスパラギン酸，グリシン (以上東京化成，特級)，l-シスチン，dl-バリン，l-アルギニン塩酸塩 (以上日本理化学薬品，特級)，dl-セリン，l-フェニルアラニン，dl-ロイシン，dl-メチオニン，dl-ヒスチジン塩酸塩，dl-スレオニン，dl-チロジン，l-リジン塩酸塩，l-グルタミン酸，dl-トリプトファン (以上和光純薬より入手)，dl-イソロイシン (メルク製)，カゼイン酸分解物 (Difco 製，vitamin free casamino acid)。Table 1 に記載のビタミン類，プリンおよびピリミジン塩基 (以上いずれも，東京化成，特級)。

Table 1. Composition of basal medium for amino acid requirement test.

Component	Amount in 100 ml.	Component	Amount in 100 ml.
Dextrose	2g	Biotin	1γ
Sodium citrate	2 〃	Folic acid	1 〃
〃 acetate	0.1g	dl-Alanine	100mg
NH_4Cl	0.3 〃	dl-Aspartic acid	100 〃
K_2HPO_4	0.5 〃	l-Glutamic acid	100 〃
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	80mg	l-Arginine·HCl	20 〃
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	4 〃	l-Lysine·HCl	20 〃
NaCl	4 〃	dl-Histidine·HCl	20 〃
$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	16 〃	dl-Isoleucine	20 〃
Adenine sulfate·$2H_2O$	1 〃	dl-Leucine	20 〃
Guanine hydrochloride·$2H_2O$	1 〃	dl-Methionine	20 〃
Uracil	1 〃	l-phenylalanine	10 〃
Xanthine	1 〃	dl-Threonine	20 〃
Thiamine hydrochloride	100γ	dl-Tyrosine	20 〃
Riboflavin	100 〃	dl-Valine	20 〃
Pyridoxal·HCl	20 〃	dl-Tryptophane	20 〃
Ca pantothenate	100 〃	l-Cystine	10 〃
Nicotinic acid	100 〃	dl-Serine	20 〃
p-Aminobenzoic acid	20 〃	Glycine	10 〃

The final solution was adjusted to pH 6.8.

2. 供試菌株

前報の研究において使用した菌株の他に，その後，著者が分離した若干の菌株と American Type Culture Collection (以下 ATCC と略す) より新たに分与された2菌株が加えられた。

3. 培　地

アミノ酸要求試験用の基礎培地は Table 1 に示すごとく，HENDERSON および SNELL[8] のアミノ酸定量用の uniform medium にほぼ準じた組成の培地を採用し，ビタミン要求試験の場合には，Table 1 の培地組成において，シスチンおよびトリプトファン以外の総てのアミノ酸を 0.5g のカゼイン酸分解物で置換した組成の培地を用いた。これらの基礎培地から，栄養要求の試験をすべき物質のみを除いた組成のものを以て試験用培地とした。基礎培地は 2.5ml 宛，試験用培地は濁度を定量的に測定する場合 10ml 宛，肉眼的観察の場合には 2.5ml 宛分注し，10 ポンド，10 分間滅菌して使用した。

4. 接種および培養の方法

供試菌は yeast dextrose broth (1% ペプトン，0.5% 酵母エキス，0.5% NaCl，2% ブドウ糖，pH 6.8) に 24 時間宛2代継代培養し，これからさらに各基礎培地に 24 時間宛3代継代培養した後，試験用培地に接種した。試験用培地への接種法並びにその後の培養および発育の観察法等は，それぞれの実験によつて異なるので，各々の実験の場合について後述する。総ての培養は 37°C で行なつた。

実　験　結　果

実験 1. 7菌株のビタミン要求

type I の2菌株，type II の2菌株，type III の3菌株についてビタミンの要求を観察した。各菌株の基礎培地に継代培養した3代目の菌液を，径 0.3mm の白金線で，各ビタミン1種宛を欠いた試験用培地に接種し，24 時間培養後発育を示したものは，さらに同じ培地に移植し，かくして 24 時間毎に植えついで，5代の継代培養を行なつたが，5代目の培養においては，その 48 時間培養後の濁度を光電比色計によつて測定し発育度を示した。また同時に対照として，基礎培地についても，同様の方法で培養し，測定を行なつた。実験の結果は Table 2 のごとくである。

Table 2. Influence of various vitamins on the growth of enterococci.

Strain No. / Vitamin absent from medium (Type)	Y 118	N 93	Y 25	N 32	Y157	Y133	K40
Type	I	I	II	II	IIIA	IIIB	IIIC
Thiamin	26	30	26	27	18	10	12
Riboflavin	**2**	**2**	41	37	**1**	**1**	**1**
Pyridoxal	20	16	17	17	**5**	**4**	**6**
Pantothenic acid	**1**	**2**	**1**	**1**	**2**	**3**	**3**
Nicotinic acid	**1**	**1**	**1**	**1**	**1**	**1**	**1**
p-Aminobenzoic acid	33	34	41	37	42	29	41
Biotin	**4**	**4**	**5**	**6**	**4**	**5**	**5**
Folic acid	**2**	**2**	**0**	**1**	42	19	35
Control	32	35	41	37	44	26	32

Figure represents optical density ×100.

Table 2 において，対照とした基礎培地における optical density の 20% 以下の数値をゴシックで示し，これは一応必須ビタミンを表わすものとした。全菌株ともにパントテン酸，ニコチン酸およびビオチンを要求した。葉酸は type I および II の菌株に限つて要求され，反対にピリドキサールは type III の菌株のみに要求された。しかし，ピリドキサールは type I および II の菌株の発育度にも若干影響することが認められた。type I および III の菌株はリボフラビンを要求したが，type II の菌株はリボフラビンを欠く培地で，全く発育を阻害されなかつた。サイアミンを欠く培地では，全菌株とも発育しえたが，いずれも若干発育を阻害され，特に type III の菌株では，著るしい発育度の低下が認められた。全菌株ともにパラアミノ安息香酸を全く要求しなかつた。本実験に使用した菌株は少数であるが，特に葉酸，リボフラビンおよびピリドキサール等の要求が腸球菌の type に関係していることを示唆した。

実験 2. 14 菌株のアミノ酸要求

type Ⅰ の 5 菌株，type Ⅱ の 4 菌株および type Ⅲ の 5 菌株について，アミノ酸要求を観察した。ビタミン要求試験（実験 1）の場合と同様 yeast dextrose broth および基礎培地に継代培養したが，基礎培地の 3 代目の培養菌は遠心沈澱管を用い 0.9% NaCl 水で 2 回菌体洗滌を行ない，その菌液の 1 白金耳を各アミノ酸を欠く 17 本の試験培地並びに基礎培地に接種培養し，41 時間後の発育度を光電比色計で測定した。実験の結果を Table 3 に示した。

Table 3. Influence of various amino acids on the growth of enterococci.

Amino acid absent from medium \ Strain No.	Y118	Y85	H 3	T47	N93	Y25	N32	Y161	T21	T58	Y157	Y133	K40	T45
Type	Ⅰ	Ⅰ	Ⅰ	Ⅰ	Ⅰ	Ⅱ	Ⅱ	Ⅱ	Ⅱ	ⅢA	ⅢA	ⅢB	ⅢC	ⅢC
Alanine	22	28	37	37	26	30	27	33	25	10	41	28	29	34
Aspartic acid	26	31	36	38	26	32	32	34	29	9	40	27	23	36
Glutamic acid	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**
Arginine	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**1**	**1**	**1**	**1**	**0**
Lysine	18	24	34	34	**0**	18	**0**	15	24	8	33	15	15	30
Histidine	**3**	**3**	**2**	**3**	**2**	**3**	**3**	**3**	**3**	3	**3**	**2**	**2**	**3**
Isoleucine	**1**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**1**	**0**	**1**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**
Leucine	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**
Methionine	**0**	**0**	**1**	**0**	**1**	**1**	**0**	**0**	**0**	**1**	**0**	**2**	**1**	**1**
Phenylalanine	22	19	37	**0**	20	30	31	33	**0**	9	40	16	15	34
Threonine	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	8	43	31	27	**0**
Tyrosine	25	31	33	38	27	18	23	28	21	12	41	30	24	34
Valine	**0**	**0**	**1**	**0**	**0**	**0**	**1**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**
Tryptophane	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**
Cystine	22	34	41	42	30	20	11	19	10	9	43	30	29	33
Serine	12	17	21	23	15	10	7	22	9	6	30	25	20	29
Glycine	**0**	**0**	**0**	**1**	**0**	**1**	**1**	**0**	**0**	**1**	**1**	**0**	**0**	**1**
Control	23	29	37	38	26	34	32	34	28	10	43	31	27	35

Figure represents optical density ×100.

Table 3 においても，対照の 20% 以下の数値をゴシックで示したが，ほとんど総ての菌株がともに必須としたアミノ酸はグルタミン酸，アルギニン，ヒスチジン，イソロイシン，ロイシン，メチオニン，バリン，トリプトファンおよびグリシンの 9 種であつた。またアラニンおよびアスパラギン酸を要求する菌株は見られなかつた。リジン，フェニルアラニン，チロジンおよびセリンの 4 種のアミノ酸要求は菌株によつて種々の程度に異なるが，その要求と菌の type との関連は見られなかつた。シスチンを欠いた培地では，type Ⅱ の菌株のみが，若干発育を阻害されており，さらにスレオニンを欠いた培地では，type Ⅰ および Ⅱ に属する菌株は全く発育せず，type Ⅲ の菌株は T 45 を例外として，いずれも対照と同様発育し，その要求が菌の type によつて，明瞭に異なることを示唆した。例外を示した T 45 は南氷洋の鯨の腸管より分離されたもので，type Ⅲ の中でも特異な菌株である。

実験 3. 3 菌株のプリンおよびピリミジン塩基要求

type Ⅰ，Ⅱ および Ⅲ の各 1 菌株について，アデニン，グアニン，ウラシルおよびキサンチンの要求を観察した。基礎培地には，ビタミン要求試験（実験 1）と同じ組成のものを用い，これより，Table 4 に示すごとく，種々の組合せでプリンおよびピリミジン塩基を除いた組成の培地をつくり，実験 2 の方法に準じて接種並びに培養を行なつたが，濁度の測定は 16 時間培養後のものについて行なつた。

Table 4. Influence of purine and pyrimidine bases on the growth of enterococci.

Base absent from medium (Strain No. / Type)				Y 137 (I)	T 21 (II)	N 19 (III C)
Control				24	30	31
			X	23	20	32
		U		24	32	27
	G			25	28	30
A				24	29	35
		U	X	18	24	25
	G		X	25	25	1
A			X	25	23	29
	G	U		24	30	35
A		U		21	30	31
A	G			26	21	15
	G	U	X	16	22	2
A		U	X	22	21	28
A	G		X	17	24	2
A	G	U		25	30	19
A	G	U	X	14	25	4

A: adenine, G: guanine, U: uracil, X: xanthine.

Table 4 に示したごとく，Y 137 (type I) および T 21 (type II) はプリンおよびピリミジン塩基を欠いた場合，それ程顕著な影響を受けぬごとくであるが，N 19 (type III) はグアニンおよびキサンチンを同時に欠いた場合，発育度の極端な低下が見られた。

実験 4. 腸球菌の type とリボフラビン，ピリドキサール，葉酸およびスレオニン要求との関係

実験 1 および 2 の観察結果は，腸球菌のこれらビタミンおよびアミノ酸要求が，その type と興味ある関係を有することを示唆したので，さらに 35 菌株 (type I の 11 株，type II の 10 株および type III の 14 株) についてこれらの関係を検討した。本実験においても，実験 1 および 2 と同様の基礎培地を用い，菌の接種その他の方法は実験 2 に準じたが，発育度の観察は 43 時間培養後のものについて肉眼的に行なつた。結果の表示は，発育して溷濁並びに沈澱を生じたものを＋，全く発育しないかほとんど発育を示さぬものを － とし，発育したものの中，比較的発育度の高いものを 卄，特に発育度の低いものを ± とした。実験の結果を Table 5 に示した。

Table 5. Differences in the requirement of riboflavin, pyridoxal, folic acid and threonine by varying enterococcal organisms.

Strain No.	Type	Riboflavin	Pyridoxal	Folic acid	Threonine	Control
Y 20	I	卄	+	±	−	卄
Y 46	I	−	卄	±	−	卄
Y 85	I	−	+	±	−	卄
Y137	I	−	卄	±	−	卄
N 85	I	−	卄	±	−	卄
N100	I	−	卄	±	−	卄
W 26	I	−	卄	±	−	卄
T 30	I	−	卄	±	−	卄
T 34	I	−	卄	±	−	卄
T 47	I	−	卄	±	−	卄
H 3	I	−	卄	±	−	卄
Y 82	II	卄	卄	−	−	卄
Y161	II	卄	卄	−	−	卄
N 15	II	卄	卄	−	−	卄
N 54	II	卄	卄	−	−	卄
N 80	II	卄	卄	−	−	卄
K 8	II	卄	卄	−	−	卄
K 17	II	卄	卄	−	−	卄
T 21	II	卄	+	−	−	卄
T 36	II	卄	卄	−	−	卄
T 55	II	卄	卄	−	−	卄
Y157	III A	−	±	卄	卄	卄
T 12	III A	−	+	卄	卄	卄
T 26	III A	−	±	+	+	+
T 58	III A	−	±	+	+	+
H 15	III A	−	±	卄	卄	卄
Y 7	III B	−	±	卄	卄	卄
N 64	III B	−	±	+	+	+
E 4	III B	−	±	卄	卄	卄
N 19	III C	−	±	卄	卄	卄
N133	III C	−	±	卄	卄	卄
W 7	III C	−	±	+	+	+
K 43	III C	−	±	卄	卄	卄
T 45	III C	−	±	卄	−	卄
T 54	III C	−	±	卄	卄	卄

Table 5 に示したごとく，リボフラビン，ピリドキサール，葉酸およびスレオニン要求と菌の type とが相当明瞭な関係を有することが明らかとなつた。これらの関係において，どの程度に例外的性状を示す菌株が存在するか，また糖類分解能によつては3種の典型的 type に分類できない非定型的菌株が如何なる栄養要求を示すか等の点を検討する目的で，さらに多数の種々の菌株について，リボフラビン，葉酸およびスレオニン要求と菌の type との関係を検討した。本実験においては，接種菌の洗滌を略し，径 0.3mm の白金線によつて試験用培地に接種し，48 時間培養後における発育度を肉眼的に観察した。なおこのように菌の接種法を簡易化しても，肉眼的の観察結果には，ほとんど影響しないことを予め確認しておいた。糖類分解能によつて明瞭に典型的 type に分類された菌株についての観察結果を Table 6 に，非定型的糖類分解能を示した菌株についての結果を Table 7 に示した。ATCC の菌株についても同様の観察を行ない，その結果を Table 8 に示した。Table 6, 7 および 8 において，＋は要求を，－は非要求を，± はこれを欠いた場合発育しうるが著るしく発育を阻害されることを表わした。

Table 6. Relationship between nutritional requirements and the types of enterococci.

Nutritional requirement			Number of strains tested		
Riboflavin	Folic acid	Threonine	Type Ⅰ	Type Ⅱ	Type Ⅲ
+	±	+	56		
−	−	−	1		
−	±	+	5	2	
+	+	+		1	
−	+	+		18	
−	−	+		1	
+	−	+		1	1
+	−	−			28
Total			62	23	29
			114		

Table 6 に示したごとく，これらの栄養要求と腸球菌の type との間には明瞭な関係が認められた。特に type Ⅲ の菌株はほとんど総てリボフラビンのみを要求し，葉酸並びにスレオニンを要求しないことを明らかにした。スレオニンを要求したところの例外的結果を示した1菌株は前述同様南氷洋の鯨から分離したものであつた。type Ⅰ の 62 菌株の中 56 菌株はこの type 独特の栄養要求を示し，リボフラビンおよ

Table 7. Nutritional requirements of atypical strains of enterococci.

Strain No.	Fermentation of sugars: Mannitol	Sorbitol	Glycerol	Arabinose	Nutritional requirement: Riboflavin	Folic acid	Threonine
Y 171	+	+	−	+	−	+	−
Y 180	+	+	+	+	−	−	−
H 22	+	+	−	+	+	+	+
H 23	+	+	+	+	+	−	−
H 31	−	−	−	+	+	+	+
H 34	+	−	+	+	+	±	+
H 40	+	−	−	−	−	±	+
H 41	+	−	−	−	−	+	+
T 46	−	−	−	+	+	±	+
T 73	+	+	−	+	+	±	+

Table 8. Nutritional requirements of some enterococcal organisms collected by ATCC.

Strain	ATCC No.	Type	Nutritional requirement: Riboflavin	Folic acid	Threonine
Str. faecalis	8043	Ⅱ	−	+	+
Str. faecalis	10541	Ⅱ	−	+	+
Str. zymogenes	10100	Ⅲ	+	−	−
Str. durans	9810	Ⅱ	+	±	+
Str. faecalis	9790	Ⅱ	−	+	+
Str. faecalis	8022	Ⅱ	−	+	+
Str. faecalis	6569	Ⅰ	+	±	+
Str. faecalis	6057	Ⅰ	+	±	+
Str. faecalis	4835	Ⅲ	−	−	−
Str. zymogenes	6054	Ⅲ	+	−	−
Str. durans	423	Ⅱ	−	+	+
Str. durans	6056	Ⅱ	+	±	+
Str. faecalis	7080	Ⅲ	+	−	−
Str. zymogenes	6641	Ⅲ	+	−	−

びスレオニンを要求し，葉酸を欠いた場合著るしく発育を阻害されるものであつた。この type の中にもリボフラビンを要求しない5菌株が見出だされ，その他に，特異な栄養要求を示した1菌株を認めた。type II の 23 菌株の中，18 菌株はこの type に独特の栄養要求を示し，リボフラビンを要求しない点で type III および type I の大部分の菌株と異なつており，また葉酸を要求する点でも特異であり，スレオニンを要求する点では type I と同様で type III と異なるものであつた。

Table 7 に示したごとく，非定型の菌株の中，H 34，T 46 および T 73 の3菌株はそれぞれグリセロール，マンニットおよびソルビットの分解能の点で type I と異なるが，栄養要求の上では type I の典型的性状を有しており，type I の変異株とみなすことができるであろう。また同様に H 41 および H 23 はそれぞれ type II および III の変異株とみなしうる。H 40 の栄養要求は type I および II の少数の菌株においてみられたものと同一であつた。その他の4菌株は栄養要求の点でも3種の type の典型的性状を示さぬので，あくまで特異的な菌株とみなさるべきものであろう。

Table 8 に ATCC の菌株の栄養要求試験の結果を示した。Table 6 に示した結果とほぼ一致した結果がえられたが，*Str. faecalis* ATCC 4835 (type III) はリボフラビンを要求しない点で，きわめて特異的であつた。また *Str. durans* の3菌株も一応糖類分解能により type II に分類しておいたが，これらの中2菌株は栄養要求の上では type II と全く異なり，典型的 type I の性状を示し，他の1菌株は type II の性状を示した。前の2株は蔗糖分解能を欠く点でも一般の type II の菌株と異なるものであつた。

考　　察

著者は前報において，マンニット，ソルビット，グリセロールおよびアラビノース分解能によつて，腸球菌を3種の type に分類しうることを明らかにした。本研究において，腸球菌の栄養要求がこれらの type によつて差異があるか否かを検討したところ，特にリボフラビン，葉酸およびスレオニンの要求が type によつて明瞭に異なることを認めた。前報にも述べたごとく，type III の菌株はゼラチンを液化しない菌株（III A，III B）と液化する菌株（III C）とを含むので，Bergey's manual の分類によると，前者に相当する *Str. faecalis* 並びに後者に相当する *Str. faecalis* var. *liquefaciens* を包括しているが，本研究の結果では，これら蛋白分解能の有無に無関係に，この type に属する総ての菌株は，栄養要求においてもリボフラビンを要求し，葉酸並びにスレオニンを要求しない点で全く同様で，かつ独特の性状を示した。すなわち前報で述べた糖類分解能および抗生物質に対する抵抗性等のみならず，さらに栄養要求性からも，これらを一つの独立した type と認めることの妥当性を確かめえた。また南氷洋の鯨の腸管より分離した菌株は，前報において，蔗糖を分解せず，ストレプトマイシン抵抗性の大なる点で，特異的であることを指摘したが，栄養要求においても，type III の中で，唯一の例外的菌株としてスレオニンを要求し，本菌株の特異性がさらに確認された。type II の菌株はほとんど総てリボフラビンを要求せず，葉酸を要求する点で，特異の性状を有するものであり，糖類分解能とともに，この点からも明瞭に他の type と区別しうることを確認した。Table 6 に示したごとく，若干の例外的栄養要求を示す菌株が存在するとしても，各 type に属する大部分の菌株がそれぞれ独特の定型的栄養要求を示すことは，糖類分解能による分類と，栄養要求に基ずく分類とが本質的には一致することを示すものであり，本分類法が生化学的に相当重要な根拠をもつものと認めることができるであろう。糖類分解能により非定型的 type を示した菌株の中の多くは，栄養要求試験によつてそれぞれ定型的 type の変異株として説明できるようである。すでに触れたごとく，Table 7 における H 34，T 46 および T 73 は type I の栄養要求を示すので，これらは本来 type I に属すべき菌株であり，H 34 はグリセロール分解能を獲得したもの，T 46 はマンニット分解能を失つたもの，T 73 はソルビット分解能を獲得したものとみなすのが合理的であろう。H 41，H 23 および H 40 等についても類似のことがいえるが，他の4菌株は栄養要求の点からみても特異的な存在である。ここに述べる type の分類法は，前報で報告したごとく，非 β 溶血性菌株を対象とした研究によつて，導き出されたものであり，β 溶血性を有する *Str. faecalis* var. *zymogenes* および *Str. durans* に相当する菌株にも適用しうるか否かは未だ問題であ

る。Table 8 に示した結果によれば，*Str. zymogenes* の3株は栄養要求の点でも，type III の性状を有することを認めたが，*Str. durans* の2株は type II の栄養要求を示さなかつた。*Str. durans* に関するこのような所見は，本菌種を単に糖類分解能の類似性から type II に包括することの非合理的なることを示すものであり，また *Str. zymogenes* における所見は，本菌種を type III に包括しうる可能性を示唆するものである。

摘　　　要

前報で報告した糖類分解能に基ずいて分類した腸球菌の各種 type の間に，栄養要求の差異があるか否かについて観察した。type I の2菌株，type II の2菌株，type III の3菌株についてビタミン要求を試験したところ，全菌株ともに，パントテン酸，ニコチン酸およびチオチンの3種のビタミンを要求し，またリボフラビン，ピリドキサールおよび葉酸要求は腸球菌の type により異なることを観察した。type I の5菌株，type II の4菌株，type III の5菌株について，アミノ酸要求を観察したところ，グルタミン酸，アルギニン，ヒスチジン，イソロイシン，ロイシン，メチオニン，バリン，トリプトファンおよびグリシン等9種のアミノ酸は，総ての試験菌株に必須であつた。また type I および II の菌株に限つてスレオニンを要求し，シスチンを欠いた場合には，type II の菌株のみ発育度が低下することを認めた。リジン，フェニルアラニンおよびセリンの要求は菌株により異なるが，菌株の type による差異は見られなかつた。type I の 62 菌株，type II の 23 菌株，type III の 29 菌株について，リボフラビン，葉酸およびスレオニン要求を観察したところ，腸球菌の type によつて明瞭に異なつており，大体において，type I はリボフラビンおよびスレオニンを要求し，葉酸を欠くと著るしく発育を阻害され，type II は葉酸およびスレオニンを要求するが，リボフラビンを要求せず，type III は type II と全く反対に，リボフラビンを要求するが，葉酸およびスレオニンを要求しないことを認めた。

終りに臨み，懇篤なる指導と校閲を賜わつた東京水産大学関根隆教授に謹んで感謝の意を表する。また本研究の遂行に協力された同大学小泉千秋並びに佐伯和昭の両氏に深く感謝する。

文　　　献

1) SCHUMAN, R. L. and FARRELL, M. A.: *J. Inf. Dis.*, **69**, 81 (1941).
2) NIVEN, C. F. and SHERMAN, J. M.: *J. Bact.*, **47**, 335 (1944).
3) DUNN, M. S., SHANKMAN, S., CAMIEN, M.N., and BLOCK, H.: *J. Biol. Chem.*, **168**, 1 (1947).
4) SHANKMAN, S., CAMIEN, M. N., BLOCK. H., MERRIFIELD, R. B., and DUNN, M. S.: *J. Biol. Chem.*, **168**, 23 (1947).
5) HOFFMAN, H. A. and PAVCEK, P. L.: *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **78**, 734 (1951).
6) SHOCKMAN, G. D.: *J. Bact.*, **72**, 101 (1956).
7) 堀江　進: 本誌, **25**, 488 (1959).
8) HENDERSON, L. M. and SNELL, E. E.: *J. Biol. Chem.*, **172**, 15 (1948).

アコヤガイおよびイケチョウガイの生化学的研究—X.
貝殻中の Mn の形態について

堀 口 吉 重

(1959 年 7 月 22 日受理)

BIOCHEMICAL STUDIES ON *PTERIA (PINCTADA) MARTENSII* (DUNKER) AND *HYRIOPSIS SCHLEGELII* (v. MARTENS)—X. ON THE CHEMICAL STATES OF Mn IN SHELL

Yoshishige HORIGUCHI*

When cultured pearls are subjected to the neutron irradiation, the color changes from common colors such as white, silver, pink, cream, gold to black or blue one. In this coloration, blackish pigment is found chiefly in the nucleus which is made of shell of fresh water clam, containing comparatively large amount of Mn.

To clarify the effects of Mn on black coloration of the nucleus by neutron irradiation, the states of Mn compounds in shell were investigated with following results.

Those results seen in Table 1～3 suggest that the great part of Mn in the shell of fresh water clam exists as $MnCO_3$ and its oxides, and the coloration of nucleus by neutron irradiation is due to the blackish color of Mn oxides which were derived from $MnCO_3$.

On the other hand, large amount of acid soluble pigment as well as Mn distributes in the periostracum and prismatic layer of pearl oyster and of black lipped pearl oyster, but there was found no evidence for of Mn–pigment complex (see Table 1, 2, 4).

著者等は真珠に中性子を照射すると黒真珠またはブルー真珠に変化する現象を見出し，その変色原因を明らかにするために貝殻中の微量成分を分析した[1]。そして黒色系色素が生成される真珠核(ドブ貝殻)には特異的に多量の Mn が含まれることを知つた。また数種海産貝殻における Mn と酸溶性赤色々素はいづれも殻皮層および稜柱層に多いが，アコヤガイ，その他の貝殻には porphyrin 系色素[2)–8)] や，metalloporphyrin[9)] が存在するのでそれらは Mn–porphyrin として存在する可能性もある。

このため特に貝殻中の Mn の形態について 2, 3 の方法により分析し，中性子照射による真珠核の変色におよぼす Mn の影響，貝殻色素と Mn の結合について検討したのでそれらの結果について報告する。

実 験 の 部

I. 分析方法および結果

本実験は2つの目的‥‥1つは Mn 含量の特別に多いドブガイ，イケチョウガイの貝殻における Mn の形態を明らかにし，中性子照射による真珠核の変色機構を Mn 化合物の変化より説明し得るのではないかということ，他は酸溶性色素と Mn 含量の多いアコヤガイ，クロチョウガイの殻皮，稜柱層について色素と Mn は結合しているかどうかを明らかにすること‥‥を達するために次の 4 つの方法により貝殻における Mn の形態を推定しようと試みた。

i) Mn と共存する有機物の検索

貝殻中に存在するかも知れない有機–Mn，特に色素–Mn は次の酸，メタノール分別によりその結合は切

* 三重県立大学水産学部 (Fac. Fish., Pref. Univ. Mie, Japan).

れないと仮定し以下の処理を行つた。

貝殻を醋酸およびメタノールに対する溶解性により数フラクションに分け，各フラクション中の Mn と有機物（色素）の含量より有機-Mn（色素-Mn）の存否を推定した。すなわち貝殻粉末を 10% 醋酸で脱灰し，酸溶および酸不溶性フラクションに分ける。酸溶性フラクションに等量以上のメタノールを加え色素その他の N-化合物を沈澱せしめる。各フラクションの成分測定は前報[1]にしたがい，Mn は KIO_4 酸化法により，N は H_2SO_4 分解液についてミクロケルダール法により，還元糖は 5N H_2SO_4 で6時間加水分解後 SAFFER and SOMOGYI 法により測定し Table 1 の結果を得た。

Table 1. Fractionation of the shell components (Mn, N and reducing sugar), by utilizing different solubilities in acetic acid and in methanol.

Components / Shells of	Mn p.p.m.			N p.p.m.			Red. sugar (as glucose) p.p.m.	
	Acid insol.	Acid sol. Methanol insol.	Acid sol. Methanol sol.	Acid insol.	Acid sol. Methanol insol.	Acid sol. Methanol sol.	Acid insol.	Acid sol.
アコヤガイ *Pteria martensii* (DUNKER)*	5.2	0	67.6	10.300	394	168	2.980	0
クロチョウガイ *P. margaritifera* (LINNE)**	2.3	0	48.9	4.578	391	12	961	0
ドブガイ *Quadrula* sp.***	12.4	0	228.0	880	21	trace	211	0
イケチョウガイ *Hyriopsis schlegelii* (v. MARTENS)***	3.8	0	245.0	2.470	55	379	748	0

* Periostracum and prismatic layer. ** Periostracum, prismatic layer and black nacreous layer.
*** whole shell.

貝殻中の Mn は約 90% 以上が醋酸可溶であり，またメタールにより沈澱しない。これに対し N-化合物の大部分は酸不溶性であり，酸溶性-N は少いがその大部分はメタノールにより沈澱する。したがつて Mn に随伴する N はきわめて少く還元糖も存在しない。またメタノールにより大部分の色素は沈澱するが沈澱物中に Mn は全く認められなかつた。

ii) Mn のペーパークロマトグラフィ

貝殻の酸溶性フラクションより得た Mn 沈澱物をペーパークロマトグラフィにより展開させ，貝殻中の Mn の挙動を同時に展開させた標準無機 Mn と比較した。粉末試料を 10% 醋酸により脱灰し沪過して得た酸溶性フラクションは NaOH で微アルカリ性とすれば Mn および色素類は沈澱する。沈澱は小量の 1N

Table 2. Rf values of acid soluble components of shells.

Solvents / Shells of	Acetone: 35% HCl (10: 1)	Methanol: acetic acid: Water (4: 1: 1)
アコヤガイ *P. martensii* (DUNKER)	0.41(+), 0.79(−), 1.00*(−)	0.24(+), 0.44(−), 0.62*(−)
クロチョウガイ *P. margaritifera* (LINNÉ)	0.40(+), 0.78(−), 1.00*(−)	0.25(+), 0.45(−), 0.63*(−)
ドブガイ *Quadrula* sp.	0.40(+), 0.78(−)	0.24(+), 0.44(−)
イケチョウガイ *H. schlegelii* (v. MARTENS)	0.41(+), 0.79(−)	0.24(+), 0.44(−)
$MnCl_2$	0.41(+)	0.24(+)

(+): Show the positive reaction for Mn as $KMnO_4$.
(−): Show the negative reaction for Mn as $KMnO_4$.
* : Correspond to the spot of acid soluble red pigment.

HCl にとかし，東洋沪紙 No. 50 につけ，アセトン: 35% HCl (10: 1) およびブタノール: 酷酸: 水 (4: 1: 1) の溶媒で一次元上昇法により室温で展開させる。乾燥後 0.1% dithizone-CCl_4 と NH_3 ガス，アンモニア性-$AgNO_3$ で呈色せしめる。いづれの展開剤を用いてもそれぞれ 3 つの spots が得られたが，各 spot を切りとりルツボ中で灰化し KIO_4 酸化法により Mn を検出し Table 2 の結果を得た。

貝殻中の酸溶性-Mn は無機-Mn と同一の Rf 値を与え，色素 spot には Mn を認めることはできなかつた。

iii) 貝殻の I_2 遊離量の測定

Mn その他の酸化物は酸化の程度により酸性溶液において KI より I_2 を遊離する性質を有するので貝殻中の Mn も酸化物として存在すれば I_2 を遊離する可能性がある。Mn 含量の異なる 10 種類の貝殻，中性子を照射したドブ貝殻およびアコヤガイ真珠層，100°C で 150 時間加熱し灰色に着色したドブ貝殻，$MnCl_2$ と $NaHCO_3$ より沈澱せしめた新鮮な白色 $MnCO_2$，空気と接して灰褐色に着色した $MnCO_3$ 等について I_2 遊離量を測定した。

貝殻の I_2 遊離量の測定法としては貝殻粉末 5～10g に 5% KI 液 1ml を加え，ついで 2N HCl を徐々に滴下しながら時々密栓して振り脱灰せしめる。発泡が止んでから 10 分後に生成した I_2 は澱粉を指示薬とし 0.005 N $Na_2S_2O_3$ 液で滴定する。別に試料と同重量の $CaCO_3$ について同様条件下に処理してブランク試験を行うが，KI は HCl の濃度が高く，また時間の経過にしたがつて I_2 遊離量を増すので脱灰に用いる HCl 量と反応時間はブランク試験において I_2 を生成しない範囲にとどめる。分析結果は Table 3 に示した。

Table 3. Free I_2 released from shells by HCl–KCl treatment.

Shells of		Released I_2 γ/g. shell
Quadrula sp.,	shell (white)	14.8
〃	shell (gray)*	92.9
〃	shell (blackish)**	167.1
H. schlegelii (v. MARTENS),	shell (pink)	10.4
P. martensii (DUNKER),	nacreous layer**	0
〃	prismatic layer and periostracum	0
8 species of marine shellfish,	shell	0
$MnCO_3$ (white)		0
〃 (brown)		11.35 mg./g.
MnO_2 (black)		1.45 g./g.
$CaCO_3$ (white)		0

* irradiated by neutron for 1 day
** irradiated by neutron for 7 days

海産貝殻8種はいづれも I_2 生成は認められないが，淡水産貝殻は 1g につき 10～15γ の I_2 を遊離した。またドブ貝殻は中性子照射量の多いほど I_2 生成量を増す。さらに新鮮な $MnCO_3$ は I_2 を生成しないが空気に接して淡褐色を帯びた $MnCO_3$ は I_2 を生成するに至る。

iv) アコヤガイの殻皮層，稜柱層における酸溶性色素と Mn の分布

Table 4. Distribution of acid soluble Mn and pigment in the periostracum and prismatic layer of pearl oyster.

Periostracum and prismatic layer of	Acid soluble Mn p.p.m.	Acid soluble pigment
Colored zone (yellow)	55.0～67.6	+
〃 (brown)	40.6～54.1	+
〃 (blackish)	56.1～73.5	+
Colorlass zone	40.2～53.0	−

アコヤガイの殻皮および稜柱層には殻頂を起点とし貝殻先端に向い放射状に数本の黒褐色その他の色素帯が伸び色素帯と無色素帯が明らかに見分けられる場合がある。有色帯と無色帯における酸溶性色素および Mn 含量の相関々係を求めるために色素分布の判然とした殻皮および稜柱層を両帯に分け，その粉末を 10% 酷酸で脱灰し沪過後酸抽出液中の Mn および赤色々素の含量を比較した (Table 4)。

酸溶性赤色々素は有色帯より多量抽出されるに対し無色帯の抽出液にはほとんど認められずきわめて対照

的な分布を示したが，Mn はいづれも 40〜74 mg·% 含まれ両帯における分布に大差は認められない。

II. 考　察

i）ドブガイ貝殻における Mn の存在形態

貝殻を醋酸およびメタノールに対する溶解性により数フラクションに分けると，Mn は約 90% 以上が酸溶性であり，また酸溶性-Mn はメタノールにより全く沈澱しない。これに対し N 化合物は大部分が酸不溶性であり，また酸溶性 N の大部分はメタノールにより沈澱するので Mn と行動をともにする N は痕跡にすぎない (Table 1)。処理中に Mn と有機物の結合が切れないと仮定すればドブガイ貝殻における Mn の大部分は N 化合物と結合して存在する可能性はほとんどない。また酸溶性 Mn は沪紙上で dithizone-CCl_4 と NH_3 ガスにより無機 Mn と同様の呈色を与え，さらにペーパークロマトグラフィにより展開させた結果 (Table 2) も無機 Mn と同様の Rf 値を与えた。

以上の結果はいづれも貝殻中の Mn の大部分は無機-Mn として存在するか，あるいは有機-Mn として存在する場合でもその結合力はきわめて弱いことを示唆している。

貝殻中の Mn が大部分無機-Mn として存在すると仮定すれば，ドブガイ，イケチョウガイ貝殻のアニオンのうち無機 P, S, Cl は微量しか存在しないので[1]，これらアニオンと塩を作り得る Mn はきわめて少ない。貝殻中のアニオンは大部分が CO_3 よりなるが，Mn は Ca と同様に不溶性の炭酸塩を作るので貝殻形成においても $CaCO_3$ と同様 $MnCO_3$ の形態で沈着する可能性が強い。

$MnCO_3$ は比較的不安定な化合物で 100°C 以下においても MnO と CO_2 に分解し易く，O_2 があれば Mn_3O_4，Mn_2O_3，MnO_2 等の酸化物を生じ灰色〜黒褐色に変色し易い。また Mn^{+++}, Mn^{++++} 等は酸化力が強く酸性溶液において KI より I_2 を遊離する性質がある。各種の貝殻粉末を稀 HCl と KI の存在下に I_2 の遊離量を測定した結果 (Table 3) によれば Mn 含量の少い海産貝殻 8 種は I_2 を遊離しないが，Mn 含量の多いドブガイ，イケチョウガイ貝殻は微量ながら I_2 の生成が認められた。また中性子照射により着色したドブ貝殻はいづれも I_2 を遊離するが照射量が多く着色の著しい貝殻ほど I_2 遊離量が多い。また新鮮な白色 $MnCO_3$ は I_2 遊離作用は認められないが，空気と接し淡褐色を帯びれば I_2 遊離作用を呈するに至る。市販の $MnCO_3$ は灰色を帯び I_2 を遊離するが $CaCO_3$ は海産貝殻と同様この作用が認められない。

貝殻中において Mn 化合物以外に I_2 遊離作用を持つ成分が存在するかどうかは明らかでないが，上述の天然および合成 Mn 化合物における着色と I_2 遊離に関する実験結果はいづれもドブ貝殻中の Mn が $MnCO_3$ およびその酸化物の形態で存在するとの推定を支持する。

Mn がアルカリ性溶液において O_2 を吸収し易い性質は WINKLER[10] により水中の溶存 O_2 の測定に利用されているが，同様の反応は貝殻形成において $MnCO_3$ の沈着に際しても起きるであろう。

ドブ貝殻が太陽光線の直射により白色より暗灰色に変化し易いことは真珠核製造業者により経験的に知られており，また 100°C で加熱しても灰色に変色する。中性子照射による真珠核の黒変も含めてこれらドブ貝殻の変色はいづれも $MnCO_3$ の変化により説明できる。

ドブ貝殻にくらべ Mn 含量が 1/20 以下にすぎないアコヤガイ真珠層は中性子照射によりほとんど変色が認められず，また I_2 も遊離しないことは前述の推定を支持し，I_2 の遊離が中性子照射により生成した放射性物質 (^{45}Ca, ^{32}P, ^{32}S, ^{65}Zn 等はアコヤガイ，ドブ貝殻のいづれにも生成される) の放射能に原因しないことを証明している。

ii）アコヤガイ，クロチョウガイ殻皮および稜柱層における酸溶性色素と Mn の結合の有無について

前述のごとく，アコヤガイ，クロチョウガイの殻皮および稜柱層を酸抽出，メタノール沈澱させた色素中には Mn は全く認められず，また酸溶性フラクションをペーパークロマトグラフィにより展開させた結果も色素と Mn は別の spot を与え，いづれも色素-Mn の存在については否定的結果を得た。しかしながらアコヤガイ，その他の貝殻には porphyrin 系色素[2)-8)] や metalloporphyrin[9] が存在し，海産軟体類より Cu-pheophorbide 色素[11] が抽出されているので Mn-色素複合体が存在する可能性も強い。

貝殻中の色素はいづれも酸により抽出しているが，Mn と色素の結合が弱ければ酸処理により切れる恐れがあるので，かかる心配のない方法により両者の結合を推定しようとした。アコヤガイの殻皮および稜柱層には Mn と酸溶性色素がいづれも多く含まれるが，酸溶性色素は有色帯と無色帯によりその分布に著しい差があるので，若し Mn と酸溶性色素が結合して存在すれば殻皮および稜柱層の Mn 含量は色素分布に比例して有色帯と無色帯では大差を生ずるはずである。分析結果 (Table 4) によればアコヤガイ殻皮および稜柱層の Mn は有色帯，無色帯ともに 40～73 mg·% が含まれ，酸溶性色素の分布と一致しなかつた。

以上の諸結果はいづれもアコヤガイ，クロチョウガイの殻皮及稜柱層の酸溶性色素が Mn と結合して存在する可能性を否定するものであり，殻皮および稜柱層に酸溶性色素，Mn が多いことと両物質の結合とは関連性が認められない。

要　　　約

1) 中性子照射による真珠の変色原因，貝殻殻皮及び稜柱層の酸溶性色素と Mn の結合の有無を明らかにするため 2，3 の方法により貝殻中の Mn の形態を検討した。

2) ドブガイ貝殻中の Mn は大部分が $MnCO_3$ およびその酸化物として存在し，中性子照射による真珠核（ドブ貝殻）の黒色系色素の生成は $MnCO_3$ より酸化物の生成に伴う変色に原因すると推定した。

3) アコヤガイ，クロチョウガイの殻皮および稜柱層に含まれる酸溶性赤色々素と Mn が結合して存在する可能性は認められない。

終りに臨み，本実験に対し終始懇篤な御指導を賜つた本学三宅正人教授，ならびに九州大学農学部富山哲夫教授に対し謹んで感謝の意を表する。

文　　　献

1) 堀口吉重： 本誌. **25**, 392 (1959)；**25**, 397 (1959).
2) A. Comfort: *Biochim. J.*, **44**, 111 (1949).
3) R. E. H. Nicholas and A. Comfort: *Biochem. J.*, **45**, 208 (1949).
4) 田中正三・髙木　豊： 日化，**76**, 406 (1954).
5) 髙木　豊： 日化，**77**, 1707 (1955).
6) C. Y. Kennedy: *Scan. J. Clin. D. Lab. Luv.*, **8**, 79 (1956).
7) 八坂　茂・宮原昭二郎・田端義明： 長崎大水産学部研究報告，**5**, 41 (1957).
8) 沢田保夫： 国立真珠研究所報告，**4**, 335 (1958).
9) 神前武和： 生理生態，**1**, 247 (1947).
10) L. W. Winkler: *Berichte d. Deutsch. Chem. Gesellsch.*, **21**, 2843 (1888).
11) C. Y. Kennedy and H. Gverers: *J. Mar. Biol. Ass. UK*, **35**, 35 (1956).

魚類肝臓のビタミンB_2含量について

東　秀雄・村山繁雄・田部井菊子

(1959 年 10 月 29 日受理)

RIBOFLAVIN CONTENTS IN THE LIVER OF FISH

Hideo HIGASHI, Shigeo MURAYAMA and Kikuko TABEI*

1. Individual variations in riboflavin contents in the liver of fish have been assessed with respects to about twenty different species of fish made available since 1941. It has been found that among the same species of fish large and apparently old individuals do not always contain a greater amount of riboflavin in their liver than smaller ones. This phenomenon is partly different from the previous findings by Higashi et al (1942).

Generally speaking, the variation between the minimum and maximum contents remained within the range of three times. An extreme case, however, was with "aodai", *Paracaesio caeruleus*. Among individuals of this species discrepancy of the riboflavin contents was about seven times. Higashi et al (1942) reported the discrepancy much greater than in the present works.

2. Riboflavin contents in the liver have been compared among different species of fish with respect to the weight ratio of the liver to the body. In some kinds of fish such as sharks, which showed the ratio higher than the other species, the riboflavin content was not found so high as the latter group of fish. The level of their riboflavin content was lower than 3γ/g. (Fig. 1).

3. Another group of fish showed a tendency where the greater the weight ratio of the liver to thebody, the lower was the riboflavin contents in different individuals of the same species. They were common mackerel, skipjack, Alaska pollack and red salmon (Figs. 2～4).

I. 緒　　言

魚類肝臓のビタミン B_2 (以下単に B_2 と記す) 含量については多くの報告[1]があるが，含量の差異について吟味した研究は少ない。東・井関[2]の研究により，肝臓の B_2 濃度は魚種により，また同一魚種においても個体間に大きな差異があること，数種の魚類において老大魚の肝臓は幼小魚の肝臓にくらべ B_2 濃度が著るしく高いことが見出されている。また清水・日笠[3]は，数種魚類の肝臓について，魚体の成熟に伴なう B_2 含量の変異を検討している。

著者らはその後諸種の魚類肝臓の B_2 含量を測定し，魚種間の変異および同一魚種における個体間の変異について検討した。その結果魚種によつてはさきに著者らの報告した事例に反し，大型魚の肝臓の方が小型魚の肝臓よりも B_2 含量の小なる事例も観察された。また肝臓の体重に対する重量比が小なる魚種は，肝臓中の B_2 含量の低いこと，肝臓の重量比と肝臓中の B_2 含量との間に，ある魚種では負の相関がみられることを知りえたので，これらについて報告する。なお前報告の前後において測定した未発表の測定値をも，あわせてここに報告し検討を加えた。

---

* 東海区水産研究所 (Tokai Reg. Fish. Res. Lab. Chūō-ku, Tokyo, Japan).
東海区水産研究所業績 B 第 324 号.

II. 実験材料および方法

1. 供試料　試料は水揚げ直後にドライアイス中に保存したもの，あるいは水揚げ後氷詰めにして研究室へ運搬されたものである。ただし北洋産ベニザケは冷凍品で，またヤツメウナギは漁獲後活魚のまま研究室へ運搬されたものである。

2. 実験方法　試料の測定は，肝臓をよく磨砕し，その 0.5〜0.2 g を採取し，これに蒸溜水 25〜50 cc を加え 80°C の水浴中で 15 分間加温浸出を行ない，その浸出液の一定量をとり，ルミフラビン螢光法[4]によつて総 B_2 含量を測定した。

III. 実験結果および考察

1. 魚体の大小による肝臓中の B_2 含量の差異

著者らはすでに数種の魚類において，老大魚は幼少魚より肝臓中の B_2 含量が高いことを見出したが，さらにその後諸種の魚類について魚体の大小による肝臓中の B_2 含量の差異を検討した。

実験材料は同一漁場で同時期に漁獲された同種魚類の大小2尾をえらび，肝臓中の B_2 含量を測定した。その結果を Table 1 および Table 2 に示す。Table 1 には大型魚の肝臓の方が小型魚の肝臓より B_2 含量が多いか，または等しい例を示したが，この中のアオダイにおいては著者らがすでに報告したごとく，魚体の大きいものは小さいものにくらべ肝臓中の B_2 含量が著るしく高く，その差異は6倍以上に達した。その他の魚類においては肝臓中の B_2 含量の差異はそれ程大でない。Table 2 には大型魚の肝臓の方が小型魚の肝臓より B_2 含量が少ない例を示した。既報の事例においては，いずれも大型魚の肝臓の方が小型魚の肝

Table 1. Vitamin B_2 content in the liver of various fishes correlated with individual size.*

Species	Body length cm	Body weight g.	Liver weight g.	$\frac{\text{Liver weight}}{\text{Body weight}} \times 100$	B_2 content in liver γ/g.	Source of the samples
アオダイ (Aodai) *Paracaesio caeruleus*	38.5 25.5	1310 430	7.5 4.3	0.57 1.0	206 31.9	Tsukiji, Tokyo, Oct., 57
アコウ Red rock cod *Sebastodes matsubarae*	30.2 22.5	645 310	7.5 9.0	1.16 2.9	7.9 5.3	Inatori, Shizuoka Pref., Mar., 58
ウマヅラ File fish *Cantherines unicornu*	23.5 20.5	310 230	34 22	11.0 9.55	2.9 2.2	Ito, Shizuoka Pref., Mar., 58
マトオダイ John dory *Zeus japonicus*	33 26	960 465	53 33.7	5.5 7.25	2.8 2.8	Manazuru, Kanagawa Pref., Dec., 54
カツオ Skipjack *Katsuwonus pelamis*	66.0 54.5	7560 4390	62.0 33.5	0.82 0.76	14.0 13.4	N 33°51′, E 136°44′, Feb., 42
メイチダイ *Gymnocranius griseus*	67.0 63.0	7350 6500	63.5 74.0	0.86 1.14	3.8 2.1	Ashizurimisaki, Kōchi Pref., Apr., 41
アコウ Rock fish *Sebastes matsubarai*	48.0 37.5	3000 1650	14.0 12.0	0.47 0.73	7.7 6.3	N 33°45′, E 136°10′, Feb., 42
ヤリヒゲ(トウジン) Rat-tail *Coelorhynchus multispinulosus*	68.0 58.0	1625 1600	48.0 110.0	2.97 6.89	10.2 5.4	N 33°34′ E 136°0′, Feb., 42
ヒラメ Flatfish *Paralichthys olivaceus*	54.5 49.5	4750 2890	81.0 52.0	1.71 1.80	7.4 5.3	Off Chiba Pref., Aug., 42

* The values of samples obtained before 1954 are baised on unpublished data by Higashi and Izeki.

Table 2. Vitamin B_2 content in the liver of various fishes adversely correlated with individual size.

Species	Body length cm	Body weight g.	Liver weight g.	$\frac{\text{Liver weight}}{\text{Body weight}} \times 100$	B_2 content in liver γ/g.	Source of the samples
アブラザメ Dogfish *Squalus sucklii*	97 83	7800 4760	1120 618	14.4 13.0	2.8 3.1	Onahama, Ibaragi Pref., Apr., 55
マス Pink salmon *Salmo milktschitsch*	38.5 30.3	840 435	16.5 13.8	1.96 3.17	9.5 12.2	Sado Island, Niigata Pref., Apr., 58
ウグイ A kind of minnow *Leuciscus hakonensis*	32 23	500 180	13.1 2.4	2.62 1.33	7.5 13.0	Urayasu, Chiba Pref., Sep., 55
クロシビカマス(Sumiyaki) *Promethichthys prometheus*	46.2 22.3	673 64.8	11.8 1.1	1.75 1.70	7.9 11.0	Manazuru, Kanagawa Pref., July, 55
ブリ Yellow tail *Seriola quinqueradiata*	64 34	5850 890	78 17	1.33 1.91	8.8 10.0	Manazuru, Kanagawa Pref., Oct., 55
キントキ *Priacanthus hamrur*	26.5 15.5	400 95	12.8 1.0	3.2 1.05	2.8 6.9	Manazuru, Kanagawa Pref., Jan., 55
アラ Deep sea bass *Niphon spinosus*	50.5 42	2500 1300	37 17	1.47 1.31	5.9 7.3	Inatori, Shizuoka Pref., Mar., 58
ヤハタ Common grouper *Epinephelus septemfasciatus*	29.8 22.2	859 275	9.5 3.5	1.1 1.27	10.6 14.4	Ōshima Island, Tokyo, Apr., 58
イサキ (Isaki) *Parapristipoma trilineatum*	29.7 14.3	537 53	4.9 0.6	0.92 1.13	10.0 13.0	Manazuru, Kanagawa Pref., July, 55
ヘダイ Porgy *Sparus aries*	20 14.5	330 125	4.7 2.0	1.42 1.60	5.8 13.0	Manazuru, Kanagawa Pref., Oct., 54
ブダイ Parrot fish *Leptoscarus japonicus*	25.2 20.7	510 240	16 4	3.14 1.67	5.4 9.8	Shimoda, Shizuoka Pref., Mar., 58

臓よりも含量が大であつたが，その後の調査によつて Table 2 に示すごとく逆に小型魚肝臓の B_2 含量の方が大である事例も観察された。大型魚の肝臓が小型魚の肝臓より B_2 含量の多い事例と少ない事例とがあることは，魚種による特性か，生活環境によるものか，その原因については不明である。肝臓中に B_2 が著るしく多量に蓄積される事例は一般魚類においてはほとんど観察されていないが，アオダイにおいては既報および本報の結果からも著量の B_2 を肝臓に蓄積することが観察された。(既報のアオダイにおいて肝臓中の B_2 含量は大型魚 83.7 γ/g，小型魚 1.3 γ/g を示し，その差は数十倍に達している。)

2. 魚類肝臓の重量比と B_2 含量との関係

Table 1 および Table 2 に示した以外の試料につき肝臓中の B_2 含量を測定した結果を Table 3 に示す。Tables 1, 2, 3 に示した全魚類について肝臓の重量比（肝臓重量の体重に対する百分比）と肝臓中の B_2 含量との関係を図示すれば Fig. 1 のごとくなる。Fig. 1 にみられるごとく肝臓重量比の小さい魚種においては，肝臓中の B_2 含量が魚種により多様であるが，肝臓重量比の大きい魚種においては，いずれも肝臓中の B_2 含量が小で 3 γ/g 以下のものが多い。これらの魚種はサメ類およびウマヅラ・マトウダイである。一般にサメ類肝臓は他の魚類肝臓にくらべ B_2 含量が低いが，サメ類肝臓は含油量が著大であるため，肝臓中の B_2 含量を肝臓脱脂物当りの B_2 含量に換算して，その他の魚類と比較すれば，特に B_2 含量が低

いということはない。

3. 同種魚類における肝臓重量比と B_2 含量との関係

同種魚類においては肝臓の重量比と B_2 含量との間に一定の関係を示すものがある。その事例をつぎに示す。

例1　サバの場合　　サバ 20 尾を試料とし，肝臓中の B_2 含量を測定した。肝臓の重量比と肝臓中の B_2 含量との関係を図示すれば Fig. 2 のごとくなり，肝臓の重量比が大きい魚体程 B_2 含量の低い傾向が認められる。この相関係数を求めると $r = -0.59$, 自由度 18 で，1 % の危険率において負の相関が認められる。

例2　カツオの場合　　カツオ 5 尾について肝臓中の B_2 含量を測定した。その結果を図示すれば Fig. 3 のごとくなり，測定尾数は少ないがサバにおける傾向と一致している。

例3　スケソウの場合　　スケソウ 9 尾について肝臓中の B_2 含量を測定した結果，Fig. 4 のごとくなり例 1，2 におけると同様な傾向が認められた。

Table 3. Vitamin B_2 content in the liver of other fishes than those in Tables 1 and 2.*

Species	Body length cm	Body weight g.	Liver weight g.	$\frac{\text{Liver weight}}{\text{Body weight}} \times 100$	B_2 content in liver γ/g.	Source of the samples
ヤツメウナギ Lamprey *Entosphenus japonicus*	43.0～51.3	160～263	2.5～5.4	1.56～2.93 (2.13)	5.7～11.3 (7.99)	Mogami River, Yamagata Pref., May, 56 and May, 58, (10 individuals)
カエルザメ *Heteroscymmus longus*	84.5	5500	914	16.6	2.6	Yaizu, Shizuoka Pref., Jan., 55
	85.0	5300	830	15.7	2.5	〃
トラザメ A kind of chain dogfish *Catulus torazame*	96	6850	1125	16.4	0.1	N 33°34′, E 136°0′, Feb., 42
	92	5950	780	12.9	1.5	〃
ジンベエザメ *Rhinodon typus*	330	300000	18900	6.33	6.4	Sagami Bay, Aug., 43
シュモクザメ Hammerhead shark *Sphyrna zygaena*	94	11230	1005	8.99	1.5	N 33°40′, E 134°52′, Feb., 43
ヨシキリザメ Great blue shark *Prionace glauca*	196	50670	3350	6.61	4.4	N 32°51′, E 136°44′, Feb., 42
〃	270	273750	35600	13.0	1.5	unknown
ヒラガシラ *Scoliodon walbeehmi*	188	98625	14350	14.8	2.9	Formosa, Oct., 41
ウルメイワシ Round herring *Etrumeus micropus*	21.0	150	1.3	0.87	6.9	Manazuru, Kanagawa Pref., Jan., 55
ベニザケ Red salmon *Oncorhynchus nerka*	37.3～61.0	760～3705	12.0～117.5	1.16～3.82	4.8～17.7 (11.7)	Bering Sea, June～Aug., 58, (50 individuals)
ニジマス Rainbow trout *Salmo irideus*	26.4～32.6	250～510	2.2～5.5	0.74～1.08 (0.89)	6.7～17.0 (10.0)	Fuji, Shizuoka Pref., July, 55, (6 individuals)
ウナギ Eel *Anguilla japonica*	20.3～65.0	12.5～650	0.43～11.5	1.44～3.4 (2.07)	10.9～17.2 (12.9)	Hamana Lake, Shizuoka Pref., May, 56, (8 individuals)
サンマ Saury *Cololabis saira*	30.0	130	2.3	1.77	16.0	Tsukiji, Tokyo, Sept., 54
カマス Barracuda *Sphyraena japonica*	27.0	225	2.7	1.20	7.4	Manazuru, Kanagawa Pref., Oct., 55
ボラ Mullet *Mugil cephalus*	17.5～27.5	150～440	2.3～10.3	1.53～2.4 (1.82)	12.0～13.0 (12.8)	Urayasu, Chiba Pref., Sep., 55

Species	Body length cm	Body weight g.	Liver weight g.	Liver weight / Body weight ×100	B_2 content in liver γ/g.	Source of the samples
キンメダイ Alfonsim de costa *Beryx splendens*	33.9	1258	33.5	2.6	7.0	N 35°9′, E 139°18′, Mar., 41
サバ Common mackerel *Scomber japonicus*	25.0～33.4	220～570	1.9～8.8	0.58～1.76 (1.15)	6.4～17.6 (10.85)	Zenisu, Kanagawa Pref., Chōshi and Katsuura, Chiba Pref., Apr.～May, 58, (20 individuals)
ソオダガツオ Frigate mackerel *Auxis thazard*	26.0～41.0	315～1470	4.5～29.5	1.43～2.0 (1.63)	6.3～16.0 (12.1)	Manazuru, Kanagawa Pref., Sep., 55, (4 individuals)
メバチ Bigeye tuna *Parathynnus sibi*	118	40600	243	0.60	4.7	unknown. Jan., 40
〃	62	6130	82.0	1.34	4.7	N 29°31′, E 129°28′, Jan., 41
マグロ Bluefin tuna *Thynnus thynnus*	27.0	555	7.1	1.28	16.0	Manazuru, Kanagawa Pref., July, 55
クロカワ Black marlin *Makaira mazara*	158	72000	1140	1.58	10.6	N 29°36′, E 136°32′, Feb., 42
ブリ Yellow tail *Seriola quinqueradiata*	75	9700	14.5	1.48	4.1	Off Chōshi, Chiba Pref., Feb., 42
ムロアジ Mackerel scad *Decapterus muroadsi*	24.5	175	2.2	1.23	13.0	Manazuru, Kanagawa Pref., July, 55
シマアジ *Caranx mertensi*	14.0	70	0.7	1.0	12.0	Manazuru, Kanagawa Pref., July, 58
シイラ Dolphin *Coryphaena hippurus*	62	3600	45.5	1.27	18.1	N 33°51′, E 133°44′, Feb., 42
ムツ *Scombrops boöps*	17.5	100	1.2	1.2	10.0	Manazuru, Kanagawa Pref., July, 55
〃	49.5	4160	194	4.67	6.4	unknown, Mar., 41
ハクテンハタ A kind of rock-cod *Epinephelus* sp.	107	31600	730	2.31	4.8	Inubōzaki, Chiba Pref., Mar., 42
ヒメコダイ *Chelidoperca hirundinacea*	100	57375	178	0.31	4.9	unknown. Jan., 40
メジナ (Mejina) *Girella punctata*	23.0	350	3.3	0.95	6.9	Manazuru, Kanagawa Pref., Jan., 55
トゲニベ A kind of croaker *Sciaena* sp.	106	9600	15.0	1.56	4.8	Formosa, Oct., 41
タカノハダイ *Goniistius zonatus*	27.0	400	5.4	1.35	10.0	Manazuru, Kanagawa Pref., July, 55
アマダイ *Branchiostegus japonicus*	41.0	1460	8.1	0.56	10.4	Ōiso, Kanagawa Pref., Nov., 55
ニザダイ Surgeon fish *Xesurus scalprum*	20.5	295	4.5	1.63	16.0	Manazuru, Kanagawa Pref., July, 55
カサゴ Rock cod *Sebastiscus marmoratus*	16.5～42.5	120～310	0.6～3.1	0.5～1.0 (0.69)	4.1～6.9	Manazuru, Kanagawa Pref., Jan. and July, 55, (4 individuals)
ヒラメ Flatfish *Paralichthys olivaceus*	29.0	360	2.7	0.75	15.0	Manazuru, Kanagawa Pref., Sept., 55
スケソウ Alaska pollack *Theragra chalcogramma*	26.5～48.0	205～950	5.8～52.0	2.07～5.90 (3.97)	4.7～9.4 (7.42)	Yamagata Pref., Dec., 55, (9 individuals)

* The values of samples obtained before 1954 are based on unpublished data by Higashi and Izeki.

Numerals in parentheses indicate the mean values.

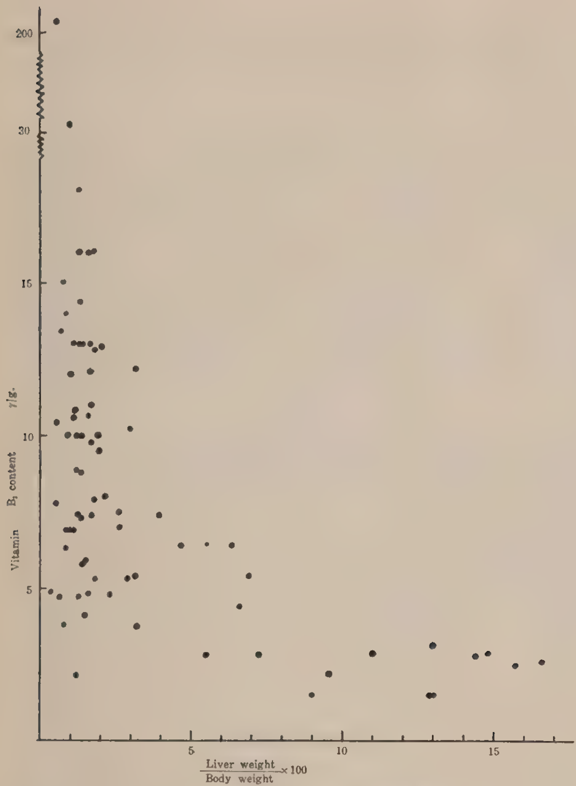


Fig. 1. 肝臓の B_2 含量と肝臓重量比
Relation between vitamin B_2 content in liver and weight ratio of liver to body of fish listed in Tables 1～3.

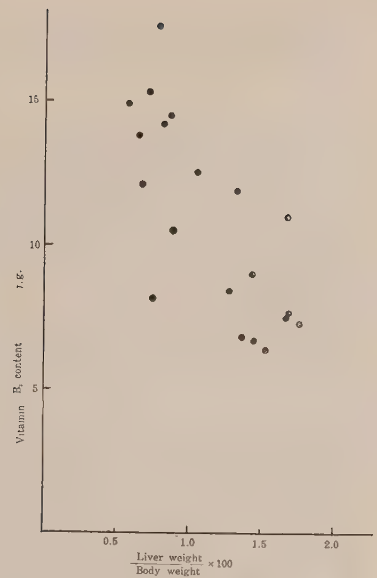


Fig. 2. サバにおける肝臓の B_2 含量と肝臓重量比
Relation between vitamin B_2 content in liver and weight ratio of liver to body of common mackerel.

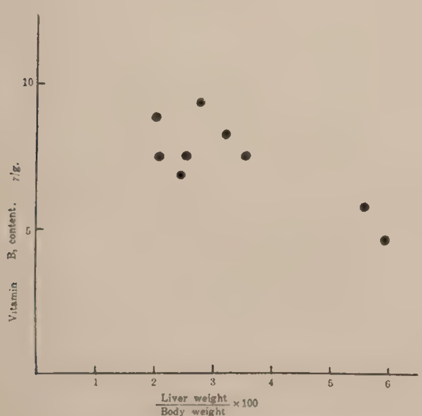


Fig. 4. スケソウにおける肝臓の B_2 含量と肝臓重量比
Relation between vitamin B_2 content in liver and weight ratio of liver to body of Alaska pollack.

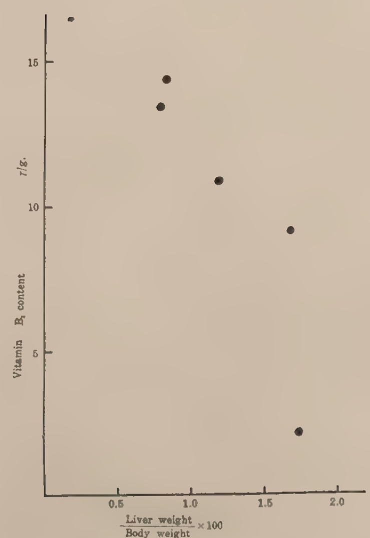


Fig. 3. カツオにおける肝臓の B_2 含量と肝臓重量比
Relation between vitamin B_2 content in liver and weight ratio of liver to body of skipjack.

その他北洋産ベニザケ 50 尾の肝臓について B_2 含量を測定した結果，別報[5]のごとく，肝臓重量比が大きい魚体程 B_2 含量の低い傾向が認められた（相関係数，$r = -0.58$，自由度 48)。

IV. 摘　　要

諸種魚類肝臓のビタミン B_2 含量を測定し，つぎの結果をえた。

1. 同種魚類において肝臓中の B_2 含量は，大型魚の方が小型魚より多い事例と少ない事例とが認められた。

2. 肝臓重量比が大きい魚種（サメ類，ウマヅラ，マトウダイ）は，肝臓中の含量が小で，その値は $3\gamma/g$ 以下のものが多い。

3. サバ，カツオ，スケソウ，ベニザケにおいて肝臓重量の体重に対する重量比が大きい魚体程，肝臓中の B_2 含量の低い傾向が認められた。

文　　献

1) Billings, F.L., Biely, J., Fisher, H. and Hedreen, C.: J. Nutr., 22, **4**, 25 (1941).
Sautier, P.M.: Commercial Fisheries Review, **17**, No. 2, 8～11 (1946).
日比　弘・堀田一雄: ビタミン，**13**, No. 2, 172 (1957).
2) 東　秀雄・井関重夫: 日農化誌，**18**, 369 (1942).
3) 清水泰幸・日笠七郎: 南海区水産研究所報告，**8**, 78 (1958).
4) 藤田秋治: ビタミン，**2**, 34 (1950).
5) 村山繁雄・簗瀬正明・田部井菊子: 東海区水産研究所報告，No. 25, 67～79 (1959).

抄　　録

光が魚類およびその他の水産動物の行動におよぼす影響について J.H. BLAXTER, H.A. and B.B. PARRISH: *Marine Research*, No. 2 (1958).
水中燈で集魚する魚群の行動についてこれまで各国で試験が行われ，一部の国ではすでに実用化されている現状である。そこでイギリスの Scottish 海域で行われている漁業に水中燈の適用性を調べるため,各種の水中燈を使用し,光が魚類およびその他の水中動物におよぼす影響について調査した。その効果の考察については魚探機および水中テレビジョン等を補助的に用いた。すなわち実験した水深は 4～110 m の範囲で,試験用電球は 15～1,500 W で変圧器を用いて出力を適宜増減して実施した。色彩燈は白色，青色，暗紫色，赤色の4種を使用した。まず魚種別にみた遊泳水深は, *Sprat* あるいは *Herring* は上層に, *Whiting* は下層に多く，*Whiting* が光に一番鋭敏で，小ニシン (*clupeoid*) は白色燈に一番影響を受け易く，特に 0.1 才魚の若年魚の方が集魚効果は著しい。これらの魚種は赤・青色の両燈にはほとんど同様な反応を示した。光力の相異によつて集魚する平均所要時間は 1,500 W 白色燈で 4分，1,000 W 白色燈 32 分， 100 W 青色燈 33 分で光力の強い程その集魚効果が顕著にみられた。また水中燈とこれに最も接近して集魚した *Whiting* の位置する間隔は 1,000 W 白色燈で 14.6～18.3 m，100W 白色燈で 10～13.7 m で一般的に光力の弱い電球に魚群は接近する。いま，光力と消滅係数との関係をみると $I_X=\frac{I_0e^{-cX}}{X^2}$ または $\log I_0-2\log eX=\log I_X+cX$ となる。ここで I_0：光源の光力， I_X：光源から X の距離の光力，c：消滅係数であつて，この試験海域の c の値は 0.22 であつた。この式より *Whiting* の生棲に適する明るさは 0.17 *Lux*. と算出された。*Herring* や *Sprat* は *Whiting* と較べると光に対する反応は全く異なり，光のおよぶ範囲内は常に集魚している。つぎに *Herring* と *Whiting* の垂直移動の週期変化は，水中燈を使用した場合は 10 分内外の間隔で魚群は移動していたが，朝・夕まずめ頃は3時間位にその移動週期は延びてくる。上下移動の機構は魚類の生理的構造からみて浮袋と腸管が直結しているものと，そうでないものとでは相異がみられるが，一般的に上昇よりも下降速度の方が2～3倍速いようである。水中燈以外で集魚効果に影響をおよぼす他の要因は船内燈もある程度作用し，月明は光に鋭敏な *Whiting* には影響をおよぼすことが考えられる。また，太陽光線は魚群に垂直移動を促すが，日中で水深 15 m，1,000 W 白色燈を使用して *Herring* を集魚できることが認められた。その他，魚の遊泳速度と流速との関係は集魚効果にも影響することが推定され潮流が非常に速い場合にはその集魚効果も減ずる。(森)

水中テレビと漁業 J. RUSSELL: *World Fishing*, 8 (6), 41～43 (1959)　New England の漁場ではトロールに水中テレビをつけた実験が数回行われた。カメラは Belly から Headline, Ground-line, 袖網をそれぞれみることができるように吊された。網を $3\frac{1}{2}$ ノットで曳航した時，Headline は 8 ft 以上海底から離れているのがみえた。Ground line は非常によく海底につき，しばしば Sand ripple にあたり，砂煙を起していた。タラ，ヒラメ，アンコウ，サメ等は非常によく入網するのが認められたが，漁具の設計について綜合的な結論は下せなかつた。また，水中テレビで，綿糸と合成繊維糸との可視限界が試みられたが，浅層では合成繊維糸は綿糸より幾分みえにくいが，中層または深層では，綿糸は容易にみられるのに，合成繊維糸はほとんどみることはできなかつた。アメリカの生物学者は小魚がトロールの網目からどのように抜けだすかという実験を水中テレビで行い，3～4ノットで曳網する時5インチの網目から小魚は容易に網目にさざることもなく抜けだすことが認められ，さらに網目試験の際，Cod end につける Cover net の効果も確かめられた。また，別の研究として，Cod end の上側に小魚を保護する目的で，小魚が抜け易くするためにつけられた Chafing gear の効果も水中テレビで確かめられたが，Chafing gear の効果はきわめて大きいことが認められた。(井上)

合成繊維製流し網の基礎試験 I.D. RICHARDSON: *World Fishing*, 8 (4), 76～78 (1959).　合繊網を新しく使用する場合，綿網と比較して漁具構成の面で多くの問題が生じる。そこで綿網と合繊網との漁具構成の比較試験を行つた。すなわちボートから重錘を付け，半尋毎に印をつけたロープを下してボートとともに移動して網の水中での垂下状態を潜水夫によつて観察した。網地の構成は英国規格のもので綿網は染着し，合繊網は Terylene の Filament と Yarn を半々に混績したものを用いた。その結果は，72 箇の浮子を付けた綿網は浮子綱が僅かに垂下して彎曲し，最も彎曲しているところは高低の差が 1.5 ft. あつて，特に網端から2尋以内の浮子綱が著しく傾斜し，沈子綱もほぼ同様な状態であつた。網地の中央部では正方形の網目の形をしている。合繊網の場合は綿網より浮子の数は少くて済むが，55 箇の浮子の付いた網では浮子綱の最も彎曲したところはその高低の差が 6 ft. もあり，網目も綿網の場合より菱形に変形し易い。浮子 50 箇の網の浮子綱は彎曲の高低が約 3 ft. の差があり， 300z

の沈子を付けた場合もあまり差異は認められなかつた。浮子 45 箇付けた網では浮子網の高低の差は 1.5 ft.，沈子網では 6 ft. もあつたが，沈子を 600z にした場合，浮子網，沈子網ともに彎曲の高低の差が約 1.5 ft. に減少してほぼ綿網と同程度の状態になつた。また一般に沈子を付けることによつて網目を変形させ，網地の引きつれが沈子網より網の中央に向つて対角線状に走るのが認められた。（森）

淡水魚から得られた抽出液の抗細菌特性の研究（報告 II） A.F. ZOTOB: *Vopr. Ixtiol*, **Vyp. 11**, 188〜191 (1958). 前報に続いて淡水魚の臓器および組織の抗細菌作用について報告している。本報ではそれらを水，アルコール，クロロホルム，塩酸およびアセトンで抽出して得られた液を拡散法 (penicilin cup) によつて *Bact. coli*, *Straphyloc. aureus*, *Bact. subtilis* に対して作用させている。用いられた臓器および組織は8種の淡水魚の肝臓，精巣，皮膚および体全部で，水による抽出は 1:5(水) の割合で溜水を加えて2時間冷所においた後4〜6層のガーゼで沪過，その後加熱した沪紙で除蛋白しながら沪過するか，1% 塩酸で除蛋白して沪過する。最後に沪液は真空中か，温湯浴で 1/5 に濃縮された。アルコールによる抽出は 40%と 96%の2濃度について行われた。加える量は 1:4(アルコール) で2時間室温で抽出後沪過することを2日続け，最後に沪液は真空中でシロップ状になるまで濃縮された。

水性抽出液—精巣を除いた *Lota lota* L. の体全部，*Esox lucius* L. および *Neogobius fluriatilis* P の体全部から得られた液が3種の細菌に対してすべて陰性であつたことを除いて，他の 10 種の液はそれらの細菌に対して明らかに陽性であつたが，その作用力は温湯濃縮液より真空濃縮液の方がより優れていた。

アルコール性抽出液—得られたすべての液は *Bact. coli*, に対して陰性であり，また，*Staphyloc aureus* に対しては陰性か疑陽性を示したが，*Bact. subtilis* にはほとんどすべての抽出液が陽性を示した。また *Lota lota* L の肝抽出液は *Parat.* 《B》の成長を阻止し得た。アルコールの細菌に対する影響は対照試験として同時に行われている。これらの抽出液のうちで，*Alburnus alburnus* から作られた液（加熱除蛋白後真空濃縮）は密封アンプル中で 75 日間保存されても3種の細菌に対して著明な発育阻止帯を形成した。クロロホルム，塩酸，およびアセトンによる抽出液は抗細菌作用を示さなかつた。（佐野）

冷凍乾燥肉の改良 M.K. HAMDY, V.R. CAHILL, and F.E. DEATHERAGE: *Food Research*, **24**, 79〜90 (1959). 死後放置および加熱調理によりイオンと蛋白質の結合がおこることおよび肉の抱水能 (water hofding capacity) は筋肉中のイオン状態を変化させることによつて変ることはすでに知られている。本研究は冷凍乾燥肉を水もどしして調理したもののきめと軟さを改良するために行つた薬品処理の効果に関するものである。牛腿肉を試料とし屠殺—冷蔵 (2〜3°C)—冷凍—冷凍乾燥—水もどしの過程中において屠殺直後に 1.03 M NaCl, 0.135 M KCl, 0.005 M Na-ascorbate を含んだ溶液（注入液/肉＝1/12.5）を注入した時の効果を，pH，水可溶窒素量，4%トリクロール酢酸可溶窒素量，肉を 70°C, 30 分加熱して分離する肉汁量，全 Ca, Ca^{++}, 全 Mg および Mg^{++} の測定により検討した。その結果薬品注入効果は 43°C 1500 μHg の冷凍乾燥法では蛋白質変性のために認められなかつたが，22〜30°C, 300〜400 μHg の冷凍乾燥法では肉の抱水能は良く品質は向上した。また冷凍乾燥した肉を 0.2 M NaCl, 0.01 M KCl, 0.05 M Na-ascorbate を含んだ溶液で水もどししたものはさらに良好であつたが冷凍前に調理加熱した肉は水もどし後木材のような感じがし，悪臭と緑色を呈した。冷凍乾燥の際にアルミニューム tray を使用すると乾燥時間が短縮された。（豊水）

B. cereus の培養に存在する2種類の芽胞とそれらの熱抵抗ならびに発芽との関係 G. KNAYSI: *J. Bact.*, 78 (2), 206〜216 (1959). *B. cereus* の芽胞を位相差顕著鏡で観察すると，光を強く屈折する bright spore と暗色に見える dark spore の2種類が存在する。dark spore の割合は1〜5%である。dark spore は bright spore より早く発芽し，bright spore は発芽する時常に dark になる。これらを培養すると，5分間に 20〜40%の芽胞が bright から dark に変化する。しかし約半分の芽胞は 60 分の培養でも bright のままで残る。このような bright spore を 50〜80°C に加熱した後，栄養物質を除くために洗浄すると，高温になるにしたがい dark になる割合が減少する。これは高温では栄養物質の吸収が少なくまた吸収された物質も容易に溶出してしまうからであろう。これらの芽胞を 50〜80°C に 10 分加熱して耐熱性を調べたところ，bright spore の活性はこの程度の加熱によつて全く影響されないが，dark spore は 50°C 10 分でも死滅してしまう。また dark spore は乾燥に対する抵抗力も弱い。dark spore のできる原因は芽胞形成後にも培地の一部に未だ利用できる栄養物が残存したり，菌の自己消化により遊離した栄養物質があるためである。すなわち bright spore は発芽の一過程として dark spore に変るのであろう。

（横関）

紫外部吸光による核酸の定量法 J.M. WEBB: *J. Biol. Chem.* **230** (2), 1023〜1030 (1958). 組織粉末を 5% TCA で 30 分沸騰加熱し，5% TCA で適当に稀釈した後，その 1ml（総核酸量約 100γ）を水で 5 ml に稀めて紫外部の吸光を測定する。挟雑物を除くには，5% TCA 稀釈試験液 1 ml をとり濃アンモニア（約2滴）で中和，15 分沸騰加熱後

0～5° に氷冷し，2% $AgNO_3$ 1 ml を加え氷浴 15 分後遠心分離して上澄を除き，沈澱を冷 1% $AgNO_3$ で洗滌してから 0,1 NHCl 4ml を加えて 10 分間沸騰加熱，冷却後遠心分離して核酸の HCl 溶液をうる。この 2 ml を水で 5 ml に稀めて紫外部の吸光を測定する。組織加水分解物の λ_{max} は 265mμ 附近であり，265 mμ の吸光度と総核酸量とは全く直線的な相関性を示す。$AgNO_3$ 沈澱処理を行なつた場合の回収率はほとんど 100% に近い。なお測定の場合，試料を含まない TCA 溶液を，試料液と全く同じ方法で処理したものを以て補正する。

（永山）

リパーゼの比色定量法　M.M. NACHLAS and R. BLACKBURN: *J. Biol. Chem.* **230** (2), 1051～1062 (1958).　　醋酸，カプリル酸，カプリン酸，ラウリン酸，ミリスチン酸，あるいはパルミチン酸の 2-ナフトールエステルをアセトンに溶かし (2 mg/ml)，その 5 ml を pH 7.4 のベロナール緩衝液 40 ml, 2.7×10^{-3}M の塩化カルシウム溶液 1 ml, 水 54 ml と混じ 0.1 mg/ml の基質液とする。2本の試験管に 8×10^{-2} M のタウロコール酸ソーダ溶液 1 ml，他の2本には水 1 ml を入れて置き，それぞれに等量の酵素液を加え，5～10 分後，新たに調製した基質液 5 ml を加える。酵素液だけを加えない空試験を併行する。37° で反応させ，tetrazotized diorthoanisidine（商品名 Naphthanil Diazo Blue B, または Fast Blue BB Salt）の 4 mg/ml 溶液 1 ml を加え，2～3分後 40% TCA 液 1 ml を加える。不溶性の色素を醋酸エチル 10 ml で激しく振盪して抽出し，2,000 rpm 10 分遠心分離して醋酸エチル層をとり，540 mμ の吸光を測定する。

（永山）

動物の脳下垂体成長ホルモンの N-末端アミノ酸　A. J. PARCELLS and CHOH HAO LI: *J. Biol, Chem.* **233** (5), 1140～1142 (1958).　　ウシ，ザトウクジラ，ベンガルザルおよびヒトの成長ホルモン (somatropin) の N-末端アミノ酸を flurodinitrobenzene 法によつて検べた。分解は phenylthiocarbamyl による段階的分解法と，塩酸による部分加水分解法によつた。

ウシは Ala. Phe. Ala.…および Phe. Thr. Ala. …；クジラは Phe.…；サルは Phe.…；ヒトはPhe. Ser. Thr.…である。ホルモン蛋白1分子当りの N-末端残基のモル数は，ウシでは Phe. 0.81～0.94, Ala. 0.96～0.77; クジラでは Phe. 1.15～1.11, Ala. 0; サルでは Phe. 0.60～0.87, Ala. 0; ヒト Phe. 0.82～0.84, Ala. 0 であつた。ただしホルモンの分子量はウシ 46,000, クジラ 40,000, サル 25,000, ヒト 27,000 とする。（永山）

動物の脳下垂体成長ホルモンの C-末端アミノ酸　CHOH HAO LI, A. J. PARCELLS and H. PAPKOFF: *J. Biol. Chem.* **233** (5), 1143～1145 (1958).　　カルボキシペプチダーゼによる酵素消化法とヒドラジン分解法とを併用し，ヒツジ，ザトウクジラ，ベンガルザル，およびヒトの成長ホルモンの C-末端アミノ酸を検べた。ヒツジでは….Ala. Leu. Phe; クジラは….Leu. Ala. Phe; サルでは….(Ala. Gly). Phe; ヒトでは….Leu. Phe であつた。カルボキシペプチダーゼにより遊離する Phe のホルモン1分子当りのモル数はヒツジ 0.95～0.99; クジラ 1.32～1.10; サル 0.90; ヒト 0.94～0.68 であつた。しかし，すでにウシの成長ホルモンについても知られていることと同様に，ここに挙げた動物の成長ホルモンについても，C-末端 Phe 残基はホルモンの生物学的活性にとつて不可欠のものでないことが確められた。（永山）

海産バクテリアの代謝における Na　R. A. MAC LEOD, C.A. CLARIDGE, A. HORI and J.F. MURRAY: *J. Biol. Chem.* **232** (2), 829～934 (1958). 海水から分離した Pseudomonas あるいは Spirillum の一種について，醋酸，酪酸，プロピオン酸，グルコース，ガラクトースの酸化作用における Na^+ の影響を，各基質濃度を 0.5%として観察し，Na^+ の最適濃度は 50mM であることを認めた。クエン酸，フマール酸，コハク酸の場合には Na^+ 200 mM, リンゴ酸では Na^+ 150 mM がそれぞれ最適濃度であつた。K^+ 濃度の影響はいずれの基質の場合にもみられなかつた。基質の種類による Na^+ 要求の相違は二および三塩基酸は細胞膜の透過に先立ちNa^+と結合するためと考えられる。一塩基酸およびヘキソースではそのようなことはないであろう。

菌体を含まない抽出液では菌体懸濁液で最適とされる濃度の Na^+, K^+ の存在が，かえつて酵素活力を阻害する。抽出液の場合，そのコハク酸脱水素酵素およびフラマーゼ活力は Na^+, K^+ が存在しない方が大きく，逆にリンゴ酸脱水素酵素は K^+ を必要とした。（永山）

発生中の胚のクエン酸廻路酵素系　H.R. MAHLER, M.H. WITTENBERGER and L. BRAND: *J. Biol. Chem.* **233** (4), 770～782 (1958).　　受精4日目のニワトリ胚，10 日目の肝臓と心臓にDPN特異性の乳酸，リンゴ酸，グルタミン酸脱水素酵素；赤血塩還元性のコハク酸，α-ケトグルタール酸，無性ブドウ酸脱水素酵素；TPN 特異性のイソクエン酸，リンゴ酸酵素；およびフマラーゼ，アコニターゼの存在が確認された。また DPN 特異性のイソクエン酸脱水素酵素および縮合酵素が受精後 10 日目の肝臓に認められた。乳酸脱水素酵素の活力は受精後 36 時間で 0.1 μM ($\times min^{-1}\times mg^{-1}$) で，4 日目には 0.4 μM と最高になり6日目では 0.25 μM とやや減少する。フマラーゼとリンゴ酸脱水素酵素も全く類似の傾向を示した。乳酸脱水素酵素は可溶区に多く，フラマーゼとリンゴ酸脱水素酵素はミトコンドリア区に多かつた。フマラーゼの最高活力は 0.09 μM, リンゴ酸酸脱水素酵素では 0.12 μM であつた。またグルタミン酸脱水素酵素力は小さく，最高

が受精後3日目で 0.009 μM あつた。(永山)

ニシンおよび他の海産硬骨魚卵中のビタミンAアルデヒド P. A. PLACK, S. K. KON and S. Y. THOMPSON: *Biochem. J.* **71** (3), 467〜476 (1959). ニシン卵のビタミンA効力を直接生物学的方法で測定した値が従来の方法で化学的に測定した値の約10倍にも達することが最近見出された。著者等はこの矛盾が何に由来するかを確かめるためにこの実験を行ない，従来の化学的測定法において鹸化の際に破壊するビタミンAアルデヒドが魚卵中に豊富に存在することがこの原因であることを証明した。冷凍ニシン卵の homogenate を試料とし，エタノール・石油エーテル抽出を行なうことにより，著者等は生物学的に測定された卵のビタミンA効力の 60〜70 %含む抽出物をうることができた。この抽出物を水で弱化したアルミナを使用するクロマトグラフ分離を行ない，紫外部吸収より見てビタミンAアルデヒドに相当する部分をえた。この物質は（1）紫外部吸収極大の位置，（2）還元により 325 mμ に極大が移動し，さらに HCl で処理すると典型的なアンヒドロビタミン A_1 の吸収を示すこと，（3）CARR-PRICE 反応の吸収極大の位置，（4）クロマト分析における挙動等によりビタミン A_1 アルデヒドであることが確認された。このビタミン A_1 アルデヒドはニシン卵の抽出物中に 2〜4 μg/g 含まれ，これは抽出物の全ビタミンA効力の約 80 %を占める。残りの約 20%のA効力はビタミン A_1 エステルおよびアルコールによるものである。しかしながら水弱化アルミナによるクロマト分析にかける前には抽出物は，CARR-PRICE 反応，エタノール弱化クロマトにおける挙動，鹸化の場合の破壊程度，アセトン処理に対する態度等の点で純ビタミン A_1 アルデヒドと多少異なつている。著者等はこの理由として卵中におけるビタミンAアルデヒドは脂質あるいは非脂質と結合した状態で存在し，水弱化アルミナによるクロマトの際に遊離のビタミン A_1 アルデヒドになるものと想像している。タラ類，カレイ類などの海産硬骨魚種の卵につき測定した結果ビタミンAアルデヒド含量は 1〜3μg/g で，ビタミンAエステルおよびアルコールの含量はこの 1/10 以下であつた。(衣巻)

脂肪族飽和アルデヒドの 2.4-dinitrophenylhydrazone のペーパークロマトグラフィー V. R. BHALERO and F. A. KUMMEROW: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **36** (10), 461〜463 (1959). Ethylene glycol-methanol (1 : 4, v/v) に浸漬処理した Whatman No. 1 沪紙に，methanol を飽和させた *n*-heptane を展開剤として C_1〜C_9 の脂肪族飽和アルデヒドの 2,4-DNPH を下降式クロマトグラフィーにより分離した。Rf の決定には hydrazone 混合物から分離したハン点を抽出し，単独でさらに試験して標準と比較し，よく一致することを認めている。これらの黄色のハン点に 0.25 N, KOH alc. soln. を噴霧するとカツ色となつてその確認を容易にするが，高級のアルデヒドではさめやすい。Rf の差はアルデヒドの Chain が長くなると小さくなる。したがつて C_7, C_8, C_9 のものの hydrazone の分離をよくするにはなるべく少量の試料を使うことが望ましい。ethylene glycol の代りに propylene glycol を使うと，分離はよいが Rf が変動する。沪紙の乾燥時間は Rf にほとんど影響しないが，methanol に対し ethylene glycol の多い浸漬剤を使うと Rf が低下する。再現性を良くするにはガラス鐘を 2，3 日に1回からにして水分の影響を除くこと。沪紙の浸漬剤や展開剤を使用前に新調すること。それらに含まれている水分を除くことが重要である。なお，この方法は3時間で実施でき，ケトンの 2,4-DNPH についても十分適用できるという。(外山)

Pressure Packaged Food の微生物学的検討―III ガス圧入法の影響 E. WHEATON and P. W. HARDY: *Food Technology*, **13** (10), 571〜573 (1959). ガス圧入に用いる valve の構造やガス圧入の方法と食品の微生物による汚染との関係について検討した。実験に供した食品は grape jelly, apple butter, apple sause, chocolate syrup, coffee concentrate で供試菌はこれら食品の腐敗に関係あるものを選び特にカビは数種の芽胞を混合した懸濁液を用い，ガスは窒素ガスを用いた。valve は foam valve と dip tube valve の2種を用いた。菌の接種方法は，供試菌を valve の入口より接種してから窒素ガスを圧入する場合と，ガスを圧入してから valve のガス圧入孔内に小量の食品を入れその食品に供試菌を接種する2種の方法で行なつた。ガスの圧入は heat gassing と cool gassing の2方法を用いた。すなわち heat gassing とは缶内の食品がまだ熱いうちに窒素ガスを内圧が 120 p.s.i.g. になるまで圧入する方法で（室温に冷えると内圧が約 100 p.s.i.g. となる)，またcool gassing とは缶内の食品が室温に冷えてから内圧が 100 p.s.i.g. になるまでガスを圧入する方法である。以上の方法で製造した缶詰を 85°F に一定期間放置した後，供試菌の発育の有無を調べた結果 cool gassing より heat gassing の方が多少成績がよかつたが，foam valve と dip tube valve の差異はほとんどなかつた。valve に菌が附着しているとそこから汚染する可能性もあり，また valve のガス圧入孔内の食品からもカビの浸入する危険性が認めれた。(小泉)

雑　　録

○ 11 月理事会

1. **開催日**　昭和 34 年 11 月 13 日
2. **場　所**　東京水産大学会議室
3. **出席者**　田内会長，外 15 名
4. **議　事**

a. 学会誌の発行号切替えの件

去る 10 月大阪において開催された評議員会で本誌の発行号を月数と合せる（1月に1号を発行する）ことに決定されたが，その具体的方法について検討し，11 月発行誌を 7，8，9 合併号とし，12 月発行誌を 10，11，12 号合併号とし，昭和 35 年1月より 26 巻1号を発行することに取りきめた。

b. 大会記念号発刊の件

秋季大会記念号を昭和 35 年3月に発行する事務打合わせを行なつた。

c. 日本原子力学会誌との交換を決定した。

d. 入会承認　　個人　7名

○ 日本水産学会中部支部 10 月例会

於新潟市柳島　新潟漁業協同組合

1. 丹後伊根浦冬ブリ漁況の長期変動について……伊東祐方（日水研）
2. 春季日本海を北上するカラフトマスに関する 2，3 の知見……深滝弘（日水研）
3. スルメイカ性比の年変化……加藤源治（日水研）
4. Virtual Population による資源量推定方法の検討……山中一郎（日水研）
5. タモロコの内分泌腺の形態その他……本間義治（新潟大理）
6. 魚の游泳機構について……内橋潔（日水研）
7. 漁獲物の鮮度保持に関する研究（第 13 報）……山本常治，野口栄三郎（日水研）

○ 日本水産学会九州支部秋期大会　（11 月 22・23 日）

於　長崎県立短期大学佐世保分校，水産庁真珠研究所大村支所

1. 北部印度洋のプランクトンについて……°豊島友光・本田博（長水高）
2. シログチの成熟及産卵生態について……新宮千臣（九大農）
3. ネズミゴチの卵発生とふ化仔魚……藤田矢郎（和布刈水族館）
4. 遡河性ウグイの生態・生活史（予報）……多部田修（九大農）
5. ガンゾウビラメの年令と成長について……松浦修平（九大農）
6. ホウボウの年令と成熟について……温泉川洋彦（九大農）
7. アコヤガイの生殖巣の組織学的観察について……八木原晴之（八木原真珠）・立石新吉（活水女短大）・°藤岡城（長水高）
8. 東海サバ釣漁業の一考察……肥後道隆（鹿水試）
9. フイジー海域における 1958 年度マグロ船団の漁況の検討……古賀重行（長大水）
10. 魚類血液の赤血球沈降速度と球量値—II……°田村修・藤木哲夫・入江勝三（長大水）
11. 小型鯨類の輸送と飼育について……°水江一弘（長大水）・増本諒一（西海橋水族館）

12. 九州西方海域のウチワエビについて—II.
　　第1期フイロゾーマおよび抱卵期……道津喜衛（長大水）
13. ソウダガツオ属の1種と思われる卵およびふ化仔魚……水戸敏（九大農）
14. 魚類の耳石の薄片標本作製法について……塚原博（九大農）
15. 付着泥について……°梶原武・飯塚昭二（長大水）
16. 付着泥中に含まれる Diatom 群について……°飯塚昭二・梶原武（長大水）
17. 佐世保湾における燐酸塩・珪酸塩の出現量と日々変動の
　　様相について……°飯塚昭二・梶原武・清水千秋（長大水）
18. 延岡市A工場の排水処理と水産生物の消長……横田滝雄（南水研延支）
19. 海洋生態学的にみた有明海の干拓—I.……辻田時美（西水研）
20. 黄海漁場の海洋学的研究—I.……辻田時美（西水研）
21. ライファン（魚肉ソーセージの Casing）の防腐作用……°安永統男・富安行雄（九大農）
22. 海藻のビタミンに関する研究—VII. ニコチン酸および
　　パントテン酸……°金沢昭夫・柏田研一（鹿大水）
23. Marine Brcteria に関する研究—II. ビオチン定量法の試み
　　……°金沢昭夫・柿本大壱（鹿大水）
24. 魚肉中のアミンの生成—XI. 添加 Glucose の影響—(1)……太田冬雄（鹿大水）
25. 魚肉中のアミンの生成—XII. 添加 Glucose の影響—(2)……太田冬雄（鹿大水）
26. ブラインの氷缶金属腐蝕作用の抑制—IV……太田冬雄（鹿大水）
27. メチルアミン類中のジメチルアミンの定量……宮原昭二郎（長大水）
28. 小型船舶乗組員の栄養摂取状況（練習船による遠洋漁業）……保田正人（長大水）
29. 小型船舶乗組員の疲労とビタミン B_1 摂取の影響（練習船
　　による遠洋漁業）……保田正人（長大水）

シンポジウム

大村湾水産業の問題点　——特に真珠養殖事業を中心として——

○ 日本水産学会北海道支部大会　(11月28日)　於北海道大学水産学部

1. コンブ類に着生する動植物について……時田郇（北大水）
2. 海藻に附着する無節石灰藻について……時田郇・°正置富太郎（北大水）
3. 石狩川水による潮目の形態とその超音波の反射について
　　……石田正己・°鈴木恒由・佐野典達（北大水）
4. 石狩川口附近の潮目における幼稚魚……小林喜雄（北大水）
5. 魚病に対する紫外線等の効果……粟倉輝彦（室蘭水族館）
6. 稚魚期にX線を照射したニジマスの受精結果について
　　……°小林新二郎・結城了伍・最上又平・平田八郎・大友渉（北大水）
7. 金魚の索餌活動と酸素消費量との関係……平田八郎（北大水）
8. Marking による標識サケマスの再捕からみた標識サケマスの
　　部位について……坂野栄市（孵化場）
9. ニジマスの変態と海水に対する順応について……久保達郎（北大水）

10. サケ稚魚の行動に関する一知見……………………………小 林 哲 夫 (孵 化 場)
11. 水産動物筋肉中の有機燐酸化合物に関する研究—XVIII. 貝類筋肉中の酸可溶性核酸生分の変化について. 貝柱筋肉と普通筋肉部分の比較…………………斎藤恒行・°新井健一・田中ツネ (北 大 水)
12. 水産動物筋肉の酵素化学的研究—III. 好気的解糖作用におよぼす各種阻害剤の効果について……………吉村克二・°柴田 猛 (北 大 水)
13. 魚類の鮮度に関する研究—VII. 硬直について…………大 島 浩 (北 水 研)
14. サケマス類の脂質—II. サケ筋肉のアセトン可溶性脂質……………五十嵐久尚・座間宏一・°羽田野六男 (北 大 水)
15. すり身の凍結とその応用に関する研究—I. フィッシュステック原料としてのスケトウタラすり身の凍結貯蔵中の変化について……………西谷喬助・武田二美雄・°田中 修・久保 正・田元 馨 (北 水 試)
16. すり身の凍結とその応用に関する研究—II. ねり製品原料としてのすり身の凍結について. その I かまぼこ形成の再現性について……………西谷喬助・°田元 馨・田中 修・武田二美雄 (北 水 試)
17. サケ缶詰の製造に関する研究—XII. サケ缶詰の異臭について, その I アルキル硫化物の paper chromatography および gas chromatography について……………谷川英一・°元広輝重・下森 明 (北 大 水)
18. 紅藻類の吸収スペクトルについて……………斎藤恒行・°辻野 勇 (北 大 水)
19. 稚内市前浜における病体リシリコンブ発生の一要因について‥安藤芳明・井上勝弘 (衛 生 研)
20. 水質基準の問題……………………………五 十 嵐 彦 仁 (北 水 研)
21. イカ漁業の発展策……………………………大 島 幸 吉

正 誤 表

Vol. 25, Nos. 7—9

頁	誤	正
505 上 13 行	estaflish	establish
〃 16	[while‥‥]	不要
506 上 12	不運続的	不連続的
〃 下 1	×38～47, ○48～56, △57～76	×38～46, ○47～55, △56～76
507 上 4	(1) 1 尾中	(171 尾中
〃 上 9	いずれもである	いずれも 60%である
508 上 24	Fig. 1 B	Fig. 1 (2)

会誌 論文集 合本用ファイル (B5判) 実費頒布御通知



水産学会誌1年分を簡単に製本出来る。

冊誌を傷めず保存できる。

穴をあけず，糊も使わず合本出来る。

中の何れでも取外しが簡易。

頒価 厚さ	4.5 cm	¥ 120
〃	6.0 cm	¥ 130
	〒	¥ 20

御希望の向は代金を添え日本水産学会事務局へ御申越下さい。

○学会所定原稿用紙価格 送料共 金 100 円

昭和三十四年十二月二十日 印刷
昭和三十四年十二月二十五日 発行

第二十五巻 第十～十二号

本号定価 150 円 (送料別)

編集兼発行者 久保伊津男
東京都港区芝海岸通り6丁目 東京水産大学内

発行所 日本水産学会
東京都港区芝海岸通り6丁目 東京水産大学内
振替口座 東京 59529番
電話 (45) 2200番

印刷者 笠井康頼

印刷所 株式会社 国際文献印刷社

発売所 株式会社 国際文献印刷社
東京都新宿区山吹町184
電話 (34) 7446